

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA MÉLIOIDOSE
L'INFECTION PARMI LES CHEVAUX
DE LA GARDE RÉPUBLICAINE DE PARIS

THESE

présentée

à l'Université Claude Bernard - Lyon

(Médecine-Pharmacie)

et soutenue publiquement le 26 novembre 1980

pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

François DUMONTEIL

né le 29 novembre 1954

à Aubusson (Creuse)



CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA MÉLIOIDOSÉ
L'INFECTION PARMI LES CHEVAUX
DE LA GARDE RÉPUBLICAINE DE PARIS

THESE

présentée

à l'Université Claude Bernard - Lyon

(Médecine-Pharmacie)

et soutenue publiquement le 16 novembre 1980

pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

François DUMONTEIL

né le 29 novembre 1954

à Aubusson (Creuse)



CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA MÉLIOBOSE
L'INFECTION PARMI LES CHEVAUX
DE LA GARDE RÉPUBLICAINE DE PARIS

THÈSE

présentée

à l'École Nationale Vétérinaire de Lyon

(Médecine)

et soutenue devant le jury le 20 novembre 1912

par M. le Docteur J. L. L. L.



Faculté de Médecine

le 20 novembre 1912

à Lyon (France)



PERSOINNEL ENSEIGNANT DE L'ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE LYON

- DIRECTEUR Monsieur le Professeur COTTEREAU
 - DIRECTEURS HONORAIRES Messieurs les Professeurs TAPERNOUX, FLORIO, TROGET.

PROFESSEURS

1 ^o - Pharmacie et Toxicologie	M. LORQUE
2 ^o - Anatomie descriptive - Extérieur - Anatomie appliquée	M. BARONE
3 ^o - Physiologie - Thérapeutique - Pharmacodynamie	M. BOST
4 ^o - Histologie - Embryologie - Anatomie Pathologique	M. TIESEUR
5 ^o - Médecine et industrie des Aliments d'Origine Animale	M. FLACHAT
6 ^o - Parasitologie et Maladies Parasitaires	M. CHANTEGRELET
7 ^o - Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores - Législation Vétérinaire	M. EUZÉBY
8 ^o - Pathologie médicale du Bétail et des animaux de Basse-Cour	M. FONTAINE
9 ^o - Technique chirurgicale - Pathologie Chirurgicale	M. COTTEREAU
10 ^o - Obstétrique - Pathologie de la Reproduction	M. COULON
11 ^o - Pathologie générale - Microbiologie - Immunologie	M. BERTRAND
12 ^o - Ethnologie - Zootechnie - Economie Rurale	M. OUDAR
13 ^o - Botanique appliquée - Agronomie - Alimentation	M. TROGET
14 ^o - Physique et Chimie biologiques et médicales	M. WOLTER
15 ^o - Maladies Contagieuses - Zoonoses - Législation Sanitaire	M. DELATOUR
	M. JOUBERT

PROFESSEURS SANS CHAIRE

MM. DESCHANEL, JEAN BLAIN, LAPRAS, LE NIHOUMNEN.

MAITRES DE CONFÉRENCES

MM. BOIVIN, GASTELLU, FRAVE.

MAITRES-ASSISTANTS AGRÉGÉS

Mlle. LAVAL.

MAITRES - ASSISTANTS

Mr. BULLI, Mme CHAUVE, MM. EUZÉBY, FRANCK, FAU, GARNIER, GEVREY, GOUY, REOZ, LADE, LECREY, MEYER, MEYER, Mme RACHAIL, R. RICHARD.

ASSISTANTS

MM. BEZEAU, CHEVRIER, Mlle. COURSAT, MM. DEMONT, DENOIX, DESCOÏTES, Mme. FOUNHEL, M. GALLER, GULLI, GUIGUEN, Mlle. JANUEL, MM. JAUSSAUD, MAY, Mlle. OLLEON, M. PIERROIN.

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

Président	M. le Professeur BERTHOYE	de la Faculté de Médecine.
Premier assesseur	M. le Professeur JOUBERT	de l'Ecole Nationale Vétérinaire.
Deuxième assesseur	M. le Professeur FRAVE	de l'Ecole Nationale Vétérinaire.

L'Université Claude Bernard (Médecine-Pharmacie) de LYON et l'Ecole Nationale Vétérinaire de LYON déclarent que les opinions émises dans les dissertations qui leur sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner ni approbation ni improbation.

A ma femme

A mes parents

A ma famille

A mes amis

A Monsieur le Professeur BERTOYE
de la Faculté de Médecine de Lyon

qui nous a fait le grand honneur
d'accepter la présidence de notre
jury de thèse.

Hommages respectueux.

A Monsieur le Professeur JOUBERT
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon

qui accueillit notre sujet de thèse
avec bienveillance et nous guida
dans la rédaction de ce travail

Hommages respectueux.

A Monsieur le Professeur PRAVE
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon

qui a accepté de faire partie de
notre jury de thèse.

Hommages respectueux.

A Monsieur le Docteur DODIN

qui nous a toujours accueilli
chaleureusement et qui par ses
conseils, a permis la réalisation
de ce travail

Profonde gratitude.

A Messieurs GALIMAND et SANSON

qui ont effectué les travaux
de laboratoire à l'Institut Pasteur.

Vifs remerciements.

Au service vétérinaire de la Garde Républicaine.

TABLE DES MATIERES

	<u>Pages</u>
INTRODUCTION	1
<u>PREMIERE PARTIE :</u>	
Le bacille de Whitmore et la Mélériose	2
<u>CHAPITRE I : HISTORIQUE ET REPARTITION GEOGRAPHIQUE</u>	3
I - La découverte	3
II - La localisation au Sud Est Asiatique	3
III - Mise en évidence dans le monde	4
1) En Asie	4
2) En Océanie	4
3) En Afrique	4
4) En Amérique	5
5) En Europe	5
<u>CHAPITRE II : BACTERIOLOGIE</u>	6
I - Morphologie	6
II - Caractères biochimiques	7
1) Respiration	7
2) Métabolisme des glucides	7
3) Métabolisme des lipides	7
4) Métabolisme des protides	7
III - Aspects et caractères culturels	8
1) Aspects culturels	8
2) Caractères culturels	8
IV - Caractères biologiques	10
1) Résistance du germe	10
2) Sensibilité aux antibiotiques et aux sulfamides	10
3) Toxinogénèse	10
4) Pouvoir lysogène	10
5) Pouvoir allergène	11
6) Pouvoir immunogène	11
7) Pouvoir pathogène	11
V - Caractères antigéniques	12
1) Constituants antigéniques	12
2) Réactions sérologiques	13
<u>CHAPITRE III : EPIDEMIOLOGIE</u>	15
<u>A - Epidémiologie analytique</u>	15
I - Sources de l'infection - Matières virulentes	15
1) Origine hydrotellurique - Notion de "site"	15
2) Nouvelle niche écologique	15
3) Ensemencement du sol	16
4) Matières virulentes chez le malade	16
5) Véhicules	16

II - Persistance de la contamination-Résistance du germe	16
1) Facteurs physiques	16
2) Facteurs chimiques	17
3) Facteurs biologiques	17
III - Réceptivité	17
1) Facteurs intrinsèques	17
2) Facteurs extrinsèques	18
IV - Modes d'infection	19
V - Voies de pénétration	19
1) Expérimentalement	19
2) Dans les conditions naturelles	19
VI - Cycle possible de dispersion et contamination de Pseudomonas pseudomallei chez le cheval	20
<u>B - Epidémiologie synthétique</u>	20
I - Extension géographique de l'infection	20
1) Dans le monde	20
2) En France	20
II - Formes épidémiologiques	21
1) Formes inapparentes	21
2) Formes apparentes	21
III - Mortalité - Morbidité	22
IV - Schéma d'écoépidémiologie	23
<u>CHAPITRE IV - ETUDE CLINIQUE ET NECROPSIQUE</u>	24
<u>A - Symptômes</u>	24
I - Chez l'homme	24
II - Chez les bovins	25
III - Chez les caprins	25
IV - Chez les ovins	25
V - Chez les porcins	26
VI - Chez les carnivores	26
VII - Chez les rongeurs	26
VIII - Chez les animaux sauvages	27
IX - Chez les équins	27
1) La forme suraiguë	27
2) La forme aiguë	27
3) La forme subaiguë	28
<u>B - Lésions et anatomie pathologique</u>	28
I - Lésions macroscopiques	28
II - Histopathologie	30
<u>CHAPITRE V - LUTTE CONTRE LA MELIOIDOSE</u>	31
<u>A - Diagnostic</u>	31
I - Orientation épidémiologique	31
II - Orientation clinique et paraclinique	31
III - Diagnostic différentiel	32
<u>B - Traitement</u>	33
I - Bases et conduite du traitement	33
II - Formes suraiguës	34
III - Formes subaiguës	34
IV - Formes chroniques	34

<u>C - Prophylaxie</u>	32
I - Prophylaxie sanitaire	35
1) En milieu sain	35
2) En milieu contaminé	35
3) Dépistage - Isolement	36
II - Prophylaxie médicale	38
III - Perspectives de réglementation	37

DEUXIEME PARTIE :

Recherches personnelles sur la mélioïdose des chevaux de la Garde Républicaine de Paris	38
---	----

<u>CHAPITRE I : MOTIVATION ET BUT DES RECHERCHES</u>	39
--	----

<u>CHAPITRE II : MATERIEL - METHODES - TECHNIQUES</u>	40
---	----

I - L'effectif	40
1) Répartition	40
2) Affectation	40
II - Les méthodes employées	41
1) Diagnostic bactériologique	41
2) Diagnostic sérologique	44
3) Diagnostic allergique	45
III - Conduite de l'enquête	46
1) Les problèmes rencontrés	46
2) Choix d'échantillons	46

<u>CHAPITRE III : RESULTATS</u>	47
---------------------------------	----

I - Sérologie des jeunes chevaux	47
II - Chevaux n'ayant subi qu'un contrôle sérologique	47
III - Evolution des anticorps sur deux effectifs	48
IV - Témoins	48
V - Etude cinétique des anticorps-Test allergique- coprologie - (Vincennes)	48
VI - Etude cinétique des anticorps-Test allergique- coprologie (Célestins)	49
VII - Etude sérologique - coprologique menée dans l'effectif de l'Ecole Militaire	49

<u>CHAPITRE IV : DISCUSSION-COMMENTAIRES-SUGGESTIONS</u>	61
--	----

I - La mise en évidence directe du germe :Bactériologie	61
1) Mise en évidence au niveau du sol	61
2) Mise en évidence du germe dans les crottins	62
3) Mise en évidence du germe dans les organes	63
II - La sérologie de la mélioïdose	63
1) Notion de "seuil de positivité"	63
2) Niveau global d'une population	64
3) Cinétique	64
4) Rapport sérologie/clinique	64
5) Facteurs influents sur la sérologie	65
III - Test allergique	65
IV - Suggestions relatives à la pathogénie, au diagnostic et à la prophylaxie	66
V - Phylogénie hypothétique	67

CONCLUSIONS	68
-------------	----

BIBLIOGRAPHIE	69
---------------	----

INTRODUCTION

L'épizootie survenue en 1975 dans des parcs zoologiques parisiens, a fait de la MELIOIDOSE, zoonose considérée classiquement comme exotique, une maladie d'actualité.

- Dans cette optique, nous avons recherché l'incidence de l'infection parmi l'effectif équin de la Garde Républicaine de Paris.

- Nous rappellerons dans une première partie les données relatives au bacille de Whitmore et à la MELIOIDOSE.

- Puis nous présenterons les recherches personnelles et les résultats obtenus.

- Enfin nous discuterons ces résultats.

Première Partie :

LE BACILLE DE WHITMORE ET LA MELICIDOSE

Chapitre I

HISTORIQUE ET REPARTITION GEOGRAPHIQUE

I - LA DECOUVERTE

En 1912 à Rangoon (Birmanie) le Colonel WHITMORE⁽²¹⁾ observe une entité morbide nouvelle : LA MELIOIDOSE.

En pratiquant des autopsies sur des cadavres de vagabonds, il est frappé par les lésions présentant une ressemblance anatomopathologique avec la morve, d'où le nom de MELIOIDOSE (mélis : morve, oïdos : en forme de).

La même année et l'année suivante WHITMORE & KRISHNASWANI⁽²²⁾ observent de nouveaux cas survenant électivement chez des morphinomanes physiquement délabrés, à la suite d'injections faites dans des conditions d'hygiène lamentables.

En 1913, WHITMORE isole le bacille responsable, à partir du sang, d'expectorations et de pus de malades. Il le nomme Bacillus pseudomallei par analogie avec l'agent de la morve.

II - LA LOCALISATION AU SUD-EST ASIATIQUE

- En Malaisie, à Kuala-lumpur :

- FLETCHER en 1913, isole le même germe responsable d'une épizootie chez des rats, cobayes et lapins de laboratoire.
- STANTON en 1917 l'isole du sang, de l'urine et des fèces d'hommes présentant un syndrome cholériforme, ainsi que de la rate d'un chat présentant des lésions de septicémie hémorragique et enfin chez des rongeurs.
- En 1925, STANTON & FLETCHER l'isolent de la rate et des poumons d'un chien mort après avoir présenté des symptômes de diarrhée, d'ictère et des pustules sur l'abdomen.

- Au Viet-Nam, en 1926, PONS & Coll., à l'Institut PASTEUR de Saïgon mettent en évidence le germe à partir de cas humains.

- Le germe est alors régulièrement isolé en Extrême-Orient :

- 1929 & 1937 au Tonkin (MESNARD-JOYEUX-GAULENE)
- 1930 à Colombo (Ceylan) chez une vache par NICHOLLS⁹⁰
- 1931 à Singapour
- 1933 à Java
- 1935 aux Célèbes par BEREMER
- 1937 en Annam par HASLE & NGUYEN-DUC-KHOI
- 1945 en Birmanie
- 1947 en Thaïlande par PATTON & Coll.

- 1948 aux Philippines sur un poney local par COHEN²⁴
- 1952 en Malaisie

Les études des Instituts PASTEUR d'Indochine, à partir de 1937 (Hanoï-Dalat) montrent qu'il s'agit d'un germe tellurique.

Jusque vers la fin des années 40, la maladie est restée pratiquement localisée au Sud-Est Asiatique, à quelques exceptions près :

- 1936 à Madagascar, GIRARD⁶² isole le bacille à partir de ganglion maxillaire de porc apparemment sain. (seul cas décrit dans cette région).

- Des cas humains furent observés en dehors du foyer :

- En Afrique du Sud (MAYER & FINLAYSON)
- En Grande-Bretagne (GRANT & BARWELL)
- En France (GRENIER DE CARDENAL⁶³, DUROUX & Coll. en 1952)
On estime à une centaine les cas observés en France de 1948 à 1954.

Tous ces malades étaient, soit des civils fonctionnaires des colonies, soit surtout des militaires ayant séjourné en zone d'endémie du Sud-Est Asiatique et y ayant contracté la maladie.

Ces cas "importés" font craindre à LAVERDANT⁷⁴, dès 1953, la création de foyers en Europe à la suite du rapatriement des militaires du Sud-Est Asiatique.

Dans cette première page de l'histoire de la mélioïdose, les épidémiologistes cantonnaient strictement la localisation de la maladie au Sud-Est Asiatique, Malaisie, Péninsule Indochinoise, Indonésie, Philippines.

Puis le foyer s'étend sans interruption du Golfe du Bengale à la mer de Corail, limité au nord par les Philippines, à l'ouest par le Bengladesh, la côte orientale de l'Inde et Ceylan, au sud par le tropique.

III - MISE EN EVIDENCE DANS LE MONDE

Les dernières années ont totalement bouleversé la carte de la répartition de la mélioïdose, par la mise en évidence du germe sur les cinq continents :

1/En Asie

La nature tellurique du germe est confirmée à Singapour et à Hong-Kong.

En Iran la mélioïdose est responsable de la mort de chevaux et de mules destinés à la production de sérum, en 1970, POURTAGHVA & Coll. isolent le germe à partir d'eaux de rizières et de terre.

2/En Océanie

En Australie, en 1950, isolement sur des ovins. Epizooties sur des ovins, caprins, porcins.

En nouvelle Guinée, en 1964, RAMPLING¹⁰³ retrouve le bacille.

3/En Afrique

Au Tchad, à Fort-Lamy, PROVOST & VIGIER¹⁰² en 1959 isolent le bacille à partir d'organes de chèvres n'ayant jamais été en contact avec des animaux d'importation.

En 1960, deux souches sont isolées :

- l'une d'un tirailleur ayant séjourné au Viet-Nam 5 ans auparavant,
- l'autre d'un abcès retro-pharyngien de chameau.

Au Niger, à l'abattoir de Niamey, FERRY⁵⁰ l'identifie régulièrement sur des porcs de la région de Niamey ou venant de Haute-Volta. Il isole une centaine de souches de 1967 à 1970. Le germe est retrouvé dans le sol du Niger et en Haute-Volta en 1974.

A Madagascar la nature tellurique du germe est confirmée.

4/En Amérique

Aux Antilles Néerlandaises, le bacille est isolé en 1946 dans des élevages de porcs et de chèvres où il provoque des épizooties sévères.

L'Institut PASTEUR a localisé le germe dans des zones réputées vierges : Brésil, Pérou, Haïti.

Aux Etats-Unis des cas furent observés dans les Etats de Louisiane, Colorado, Missouri, mais tous les malades avaient séjourné outre-mer. Les cas "importés" ont eu une acuité particulière aux Etats-Unis du fait des conflits du Sud-Est Asiatique : une étude de STANFORD rapporte que d'Avril 1965 à Décembre 1969, il fut décelé 187 cas chez des rapatriés du Viet-Nam, dont 13 cas mortels.

En 1977 en Alabama, Mc CORMICK⁸³ isole le germe du sol et décrit un cas humain autochtone.

5/En Europe

Une épidémie est notée par GRENIER DE CARDENAL dans les populations faméliques de Berlin en 1947.

DODIN signale une épizootie chez des chevaux d'un élevage madrilène en 1966.

En France :

- Le germe est isolé chez des animaux et dans le sol de la ménagerie du Jardin des Plantes en 1975.²⁰

- En 1976 GAMERMAN⁵³ signale le premier cas autochtone de MELIOIDOSE humaine en France.

- L'étude épidémiologique entreprise par l'Institut PASTEUR visant à tracer la carte de la MELIOIDOSE en France a permis de localiser le germe dans de nombreuses régions : Paris, Yvelines, Essone, Dombes, Brière, Senlis, Coëtquidan, Fontainebleau, Chantilly.

Les hypothèses concernant ces différentes localisations seront abordées plus en détail dans l'étude de l'épidémiologie.

Chapitre II

BACTERIOLOGIE

Le bacille de WHITMORE, germe Gram négatif, non sporulé, mobile, a une situation taxonomique qui a beaucoup évolué tout au long des différentes étapes de sa découverte :

- Bacillus pseudomallei en 1912 par WHITMORE
- Bacterium Whitmori en 1921 par STANTON
- 1933, LEGROUX & GENEVRAY¹⁹ le comparent au bacille Pyocyane
- Malleomyces en 1933
- Loefflerella en 1935
- En 1957 situé dans le genre Pseudomonas sous le nom de Pseudomonas pseudomallei

I - MORPHOLOGIE

1/En culture jeune

Bâtonnet rectiligne ou légèrement incurvé, aux extrémités arrondies, de 3 à 6 microns de long sur 1 micron de large, il est isolé.

2/En culture plus ancienne

Formes longues, plus ou moins flexueuses, ayant tendance (comme dans les produits pathologiques) à se grouper en amas de 6 à 10 bactéries, réunies par une gangue muqueuse.

3/Coloration de Gram

Coloré uniformément ou teinté à ses extrémités (comme un bacille bipolaire).

4/Capsulé

Les germes avec antigènes muqueux M présentent une pseudo-capsule nette en contraste de phase.

5/Pouvoir chromogène

Variable suivant les souches et les milieux de culture :
ex. colonies bleues pâles sur gélose glycinée.

6/Comparaisons au sein du genre Pseudomonas

- Absence de pigments fluorescents ou diffusibles, ce qui l'oppose à la majorité des Pseudomonas.
- Présence d'inclusions de poly β hydroxybutyrate, que l'on ne trouve que chez les Pseudomonas multivorans et acidovorans ce qui

le distingue des Pseudomonas fluorescents.

- Apparition au microscope électronique de "corpuscules de MILLER" globules d'aspect lipoidiques paraissant détachés du corps microbien et qui n'existent pas chez les autres Pseudomonas.

- Le rapport (G+C)% = 69 le situe à la limite supérieure du genre Pseudomonas.

PALLERONI & ROGUL, dans leurs travaux sur les hybridations d'acides nucléiques montrent de grandes similitudes entre Pseudomonas pseudomallei, Pseudomonas cepacia et Pseudomonas mallei.

II - CARACTERES BIOCHIMIQUES

1/Respiration

- Aérobie strict en absence de nitrate.

- En anaérobiose et en présence de nitrate, il croît et pousse la dénitrification jusqu'à l'azote gazeux.

- Possède un système arginine-déhydrolase constitutif (qui lui permet l'anaérobiose en présence d'arginine) comme on en trouve chez les Pseudomonas fluorescents. Mais il est moins résistant que ceux-ci au blocage du système respiratoire par KCN.

- Possède une cytochrome-oxydase, une nitrate-réductase, une catalase.

2/Métabolisme des glucides

- Ce métabolisme, strictement oxydatif, est un des critères qui font placer le germe dans le genre Pseudomonas.

- Il utilise un très grand nombre de sucres, qui varie suivant les souches et les types culturels, mais cette utilisation ne s'accompagne jamais de dégagement gazeux.

- Il possède des hydrolases extracellulaires qui lui permettent d'utiliser l'amidon. Il est sans action sur les polyalcools.

3/Métabolisme des lipides

- Il possède une lécithinase et une lipase comme les Pseudomonas fluorescents.

- Il peut, grâce à ses systèmes polyenzymatiques, stocker et utiliser, comme d'autres Pseudomonas, le poly β hydroxybutyrate, ce qui le différencie de tout autre Pseudomonas, c'est la présence d'une enzyme particulière, la dépolymérase qui lui permet d'utiliser le poly β hydroxybutyrate exogène.

4/Métabolisme des protéides

- Toutes les souches présentent une activité uréasique en présence de sucre (mise en évidence sur milieu de Christensen).

- Bien que liquéfiant la gélatine et le sérum coagulé, son activité protéolytique est plus faible que celle de Pseudomonas aeruginosa.

- Alors que tous les autres Pseudomonas alcalinisent le lait tournesolé, Pseudomonas pseudomallei le coagule, le peptonise puis l'acidifie.

- Il ne possède pas de lysine décarboxylase, ne fabrique pas d'indole.

- Capable de synthétiser tous ses métabolites essentiels à partir de l'azote ammoniacal et du carbone organique, c'est un germe prototrophe.

III - ASPECTS ET CARACTERES CULTURAUX

1/Aspects cultureux

Pseudomonas pseudomallei croît sur des milieux très pauvres (eau du robinet stérile à 30°C). Il cultive sur milieux ordinaires entre 20°C & 42°C avec optimum à 37°C.

a) En milieux liquides :

- En milieu liquide ordinaire (eau peptonée glycinée) on observe dès la sixième heure d'étuve à 37°C un trouble en surface, s'étendant sur toute la hauteur du tube tandis qu'un voile mince se développe en surface et sur les bords du tube.

Au bout de 18 à 24 heures à 37°C il se dégage une odeur caractéristique rappelant celle de la truffe.

- Sur le milieu synthétique liquide, la croissance du germe s'accompagne, au bout de 18 à 24 heures d'étuve à 37°C, de l'apparition d'un trouble sur toute la hauteur du liquide et d'une très légère pellicule bleutée à la surface.

b) En milieux gélosés :

- En milieu ordinaire : le polymorphisme des colonies est en rapport avec deux processus :

- la dissociation S → R
- le développement de capsules

Après 18 à 24 heures d'étuve à 37°C, apparaissent des colonies S de deux à trois mm de diamètre, de deux types : les unes lisses, brillantes, transparentes ou légèrement bleutées, les autres opaques et blanchâtres (pseudocapsules)

Après deux à trois jours, les colonies deviennent R, rugueuses, ternes, avec reflet métallique, elles contiennent des bacilles fortement agglutinés.

Parfois apparaissent des colonies M, grasses, visqueuses, étirables à l'anse : ce qui correspond à une dégénérescence se traduisant par une involution muqueuse.

- En milieu synthétique : après 24 heures à 37°C apparaissent des colonies très petites, transparentes ou légèrement veloutées, ne dégageant pas d'odeur, ne suivant pas la dissociation S → R ni la variation muqueuse.

2/Caractères cultureux

Cf. tableau des caractères cultureux des principales espèces de Pseudomonas.

CARACTERES CULTURAUX DES PRINCIPALES ESPECES DE PSEUDOMONAS

GROUPE(1)	Ia	Ib	Ic	IIa	IIb	III	IV
PRINCIPALES ESPECES DE PSEUDOMONAS	<u>P. aeruginosa</u> <u>P. fluorescens</u> <u>P. putida</u> <u>P. stutzeri</u> <u>P. mendocina</u>	<u>P. alcaligenes</u> <u>P. pseudoalcaligenes</u>	<u>P. pseudomallei</u> <u>P. mallei</u> <u>P. cepacia</u> <u>P. picketti</u>	<u>P. acidovorans</u> <u>P. maltophilia</u>			
Nombre de flagelles	1	1	1	1	0	1	1
Réserve de PHB (2)	-	-	-	+	+	+	-
Pigment } fluorescent	+	+	-	-	-	-	-
} phénazine	+	d	-	-	-	-	-
Culture } + 4°C	-	+	d	-	-	-	-
à 41°C	+	-	d	+	+	-	-
Réaction de l'oxydase	+	+	+	+	+	+	-
Dénitrification }	+	d	-	+	d	-	+
(respiration)	+	d	-	+	d	-	+
Arginine-dihydrolase	+	+	+	-	-	-	-
Clivage des							
di-phénols (3)	0.	0.	0.	0.	0.	0.	m.
Besoin en facteur de croissance	-	-	-	-	-	-	-
Hydrolases } gélatine	+	+	-	-	-	-	+
extra- } PHB (2)	-	-	-	-	-	-	-
cellulaires } amidon	-	-	+	-	-	-	-
} jaune d'oeuf	-	+	-	-	-	-	-
Utilisation comme seule source de carbone et d'énergie (4) :							
glucose	+	+	+	+	+	-	+
tréhalose	-	+	-	+	+	-	+
maltose	-	-	+	-	d	-	+
m-inositol	-	+	-	-	+	d	-
mannitol	+	+	d	-	+	d	-
acétate	+	+	+	+	+	+	+
arginine	+	+	+	+	+	-	-
bétaïne	+	+	+	+	+	-	-

Abréviations :

d = réaction + ou - selon les souches.

(1) = groupes basés essentiellement sur des critères génétiques (d'après PALLERONI)

(2) = poly-bêta-hydroxybutyrate.

(3) = mécanisme de clivage des di-phénols : 0. = "ortho"; m. = "méta";
/ = pas de clivage.

(4) = milieu supplémenté avec 20mg/l de méthionine dans le cas de
P. maltophilia.

IV - CARACTERES BIOLOGIQUES

1/Résistance du germe

Bien que ne sporulant pas, le germe est doué d'une grande résistance. Ce sujet sera abordé plus en détail dans l'épidémiologie analytique.

2/Sensibilité aux antibiotiques et aux sulfamides

Le germe s'avère :

- Résistant à la pénicilline, à la polymyxine, à la colimyxine, - Parfois sensible aux tétracyclines.
- Il serait sensible à la rifampycine², à la sulfadiazine, à la gentamycine et à l'association sulfométhoxazole et triméthoprime.
- La néomycine, active in vitro, s'avère impuissante in vivo à modifier l'évolution de la maladie.
- L'antibiotique le plus régulièrement actif, tant in vitro qu'in vivo, reste le chloramphénicol. Au laboratoire, sur 140 souches, GALIMAND⁵ ne retrouve qu'une souche qui y soit résistante par la technique des antibiogrammes.

3/Toxinogénèse

Un certain nombre d'aspects cliniques suggèrent l'intervention de toxines³ : mort subite moins de 24 heures après une contamination ou fin brusque d'une affection longtemps bien supportée, accidents nerveux, paralysies, lésions hémorragiques...

Comme les autres bactéries Gram négatif, Pseudomonas - pseudomallei contiendrait des endotoxines pariétales, complexes polysaccharidiques protéiques. (Ag. O libéré par autolyse).

Il existerait une toxine léthale et une toxine dermonécrosante.

4/Pouvoir lysogène

Les travaux de LECLERC & SUREAU^{7a} ont mis en évidence, par la méthode d'isolement des phages de GUELIN & BUTTIAUX, la présence de phages anti-bacille de Whitmore sur 30 des 152 échantillons d'eaux de rizières de la région d'Hanoï. La spécificité des phages est confirmée par le fait qu'ils ne manifestent aucune activité lytique vis à vis de 25 souches d'Achromobacter, 10 souches de Flavobacterium, 8 souches de Pseudomonas aeruginosa.

Ces bactériophages ont été retrouvés par d'autres chercheurs dans d'autres "sites".

FOURNIER précise qu'à Dalat, leur fréquence augmente pendant la saison chaude et pluvieuse et diminue pendant la saison fraîche et sèche.

Des croisements effectués entre 36 souches de bacille et 24 bactériophages ont mis en lumière l'existence de types phagiques différents à l'intérieur de type sérologique considéré comme unique.

Différents travaux ont montré que la parenté entre bactériophages et bactériocines est étroite entre Pseudomonas pseudomallei et Pseudomonas mallei.

5/Pouvoir allergique

L'injection intradermo d'extraits bactériens développe localement une réaction allergique, utilisée dans le dépistage.

Des dermites, d'origine allergique, ont été décrites chez des riziculteurs, en particulier en Iran, au Sud de la mer Caspienne, ces dermites surviennent au moment du travail dans les rizières contaminées et disparaissent spontanément après l'arrêt du travail. Elles se manifestent dans les zones au contact de l'eau (mains, poignets, bas des jambes) par du prurit, de l'érythème, des vésicules et pustules.⁹⁹

L'origine allergique en est probable du fait du titre élevé en agglutinines des sujets et de la réponse positive de l'intra-dermo-réaction.

6/Pouvoir immunogène

Des recherches concernant l'immunité sont en cours, si l'on connaît les différents anticorps sériques, on ignore encore par quels processus ils interviennent lors du contact entre le germe et l'organisme.

7/Pouvoir pathogène

Le germe doit être considéré comme hautement pathogène : cela est si vrai qu'il figure en bonne place parmi les agents envisageables pour la guerre bactériologique.

a) Pouvoir pathogène naturel :

Le bacille de WHITMORE est agent de la Mélériose humaine et animale, la plupart des espèces à sang chaud sont réceptives (avec une sensibilité accrue des mammifères par rapport aux oiseaux).

La notion de "terrain" débilite joue un rôle déterminant dans l'apparition de la maladie.

b) Pouvoir pathogène expérimental :

Il est fonction de l'état des cultures de Pseudomonas : la virulence semble maximum avec des cultures jeunes (18 heures à 37°C), dans les formes où les bactéries capsulées sont fortement représentées.

La dose expérimentale joue un rôle important : des travaux de l'Institut PASTEUR, à partir de souches isolées sur du sang du cœur de souris, ont donné les résultats suivants :

Pour une souris Swiss mâle de 20 à 25 Gr.

- forme septicémique : intrapéritonéale de 10^7 à 10^8 germes.
mort en trois à quatre jours.

- forme chronique : intrapéritonéale de 10^4 à 10^5 germes.
mort en trois semaines avec abcès du poumon, du foie et de la rate.

On observe chez le cobaye inoculé par voie intrapéritonéale une orchite suppurée (signe de Strauss) comme dans la morve.

L'animal de laboratoire de choix est le hamster.

Toutes les voies utilisées entraînent les manifestations de la maladie, à condition d'inoculer une dose suffisante. (cf. Epidémiologie.)

Au laboratoire aussi, la notion de "terrain" influe :

Des expérimentations par inoculation sous cutanée au cobaye ont montré que la durée d'évolution et les lésions sont plus fonction de la sensibilité individuelle que de l'origine de la souche du germe, de son ancienneté ou de la forme lisse ou plissée du germe.

V - CARACTERES ANTIGENIQUES

1/ Constituants antigéniques

L'étude des différents antigènes de Pseudomonas pseudomallei a été effectuée par FOURNIER & CHAMBON :

- Antigène somatique O : Il résiste à HCl normal, au formol, à l'alcool, au chauffage à 120°C.
On l'extrait des corps microbiens par action de l'acide trichloracétique.
- Antigène d'enveloppe K : Il est sensible à HCl normal mais résiste au formol 0,5%, à l'alcool éthylique 96% ainsi qu'à l'action de la chaleur.
Il contiendrait deux sucres et une faible quantité d'hexosamine.

Ces deux antigènes, O & K induisent la formation d'anticorps non protecteurs d'agglutinines et de précipitines.

- Antigène muqueux M : thermolabile, il résiste au formol à 0,5% mais il est détruit par l'alcool 96% et HCl normal.
Il serait de nature polysaccharidique et induit la formation d'agglutinines et de sensibilisatrices.
- Antigène flagellaire H : thermolabile (100°C) il est détruit par alcool, HCl normal et les ferments protéolytiques.
Il résiste au formol.

A l'exception de l'antigène flagellaire H (absent chez Pseudomonas mallei, germe non cilié) on observe une communauté antigénique entre Pseudomonas pseudomallei et Pseudomonas mallei, étroite et constante.

Typage sérologique : FOURNIER & DODIN⁵⁶ ont séparé les éléments du complexe thermostable (où se trouvent les antigènes O & K); des éléments du complexe thermolabile (où se trouvent les antigènes H & M) par deux méthodes :

- La double diffusion en gélose (technique OUDIN modifiée par OUCHTERLONY).

Les sérums anti-bactéries totales font apparaître huit bandes de précipitations (W_1 à W_8) dont :

- 3 (W_3, W_4, W_6) persistent avec du sérum anti-complexe thermostable.
- 5 (W_1, W_2, W_5, W_7, W_8) persistent avec du sérum anti-complexe thermolabile.

- L'analyse immunoélectrophorétique :

Les sérums anti-bactéries totales font apparaître huit bandes de précipitations (W_a à W_h).

Les sérums anti-complexes thermostables en font apparaître deux (W_b & W_h).

Les sérums anti-complexes thermolabiles en font apparaître six ($W_a, W_1, W_3, W_4, W_5, W_6$).

L'étude de douze souches a permis de distinguer deux types :

Type I : permet d'obtenir W_1 & W_2 (ou W_{1+2} si on considère qu'elles ne forment qu'une seule bande) ² et W_b & W_f

Type II : les bandes ci-dessus manquent toujours. (jusqu'à présent il s'agit de souches australiennes)

2/Réactions sérologiques

L'antigène H provoque des K & O inagglutinabilité : on élimine les réactions faussement négatives en chauffant la souche (antigène H est thermolabile).

Ce chauffage détruit également les antigènes H qui nuisent souvent à la spécificité de la réaction.

On lit en fait, essentiellement, le titre O qui est toujours supérieur au titre K.

La valeur et l'importance de la sérologie de la mélioïdose seront abordées plus en détail dans le chapitre du diagnostic sérologique.

Comparaisons *Pseudomonas pseudomallei* - *Pseudomonas mallei*

Dès les premiers travaux de WHITMORE, les analogies cliniques et lésionnelles ont fait rapprocher les deux affections, à tel point que la mélioïdose a été longtemps appelée "fausse morve" et que les premiers auteurs considéraient l'agent de la mélioïdose comme une "variante Sud-Asiatique" du bacille de la morve.

La meilleure connaissance bactériologique a permis de les classer tous deux dans le genre *Pseudomonas*, où ils forment à eux deux un groupe bien distinct : ils présentent un certain nombre de similitudes :

- Au plan structural : ils ont un pourcentage (G+C)% des bases d'ADN identique, assez stable en fonction des souches, les expériences de ROGUL, sur le réappariement croisé de brins d'ADN dénaturé, montrent qu'il existe entre les deux germes une parenté qu'on ne retrouve qu'entre deux membres d'une même espèce, enfin les corpuscules de MILLER sont particuliers aux deux germes.

- Au plan immunologique : ils présentent des communautés antigéniques étroites et constantes et des sensibilités communes aux phages et aux bactériocines.

- Expérimentalement : leurs pouvoirs pathogènes, s'expriment tous deux par le signe de STRAUSS.

Cependant un certain nombre d'éléments les distinguent :

- *Pseudomonas mallei* est dépourvu de ciliature et donc de mobilité.

- L'équipement enzymatique de *Pseudomonas mallei* s'avère beaucoup plus pauvre par exemple en ce qui concerne la protéolyse, l'utilisation du carbone et des acides aminés, présence rare d'uréase chez *Pseudomonas mallei* qui par ailleurs ne pousse pas la dénitrification jusqu'à l'azote gazeux.

- *Pseudomonas mallei* croît moins facilement en culture et nécessite des facteurs de croissance, sa sensibilité aux antibiotiques est beaucoup plus large.

- Sur le plan immunologique : Alors que les souches de *Pseudomonas pseudomallei* présentent une grande homogénéité sérologique, les souches de *Pseudomonas mallei* (dépourvu d'antigène H) s'avèrent plus hétérogènes.

On peut y distinguer deux groupes :

- L'un homogène, indistinguable sérologiquement du Pseudomonas pseudomallei (type I).

- L'autre hétérogène, présentant des communautés variables et inconstantes entre eux vis à vis de Pseudomonas pseudomallei (type II).

Ces données ont fait émettre l'hypothèse qu'il existerait à la surface des Pseudomonas pseudomallei des structures superficielles porteuses de sites antigéniques, ces structures manqueraient plus ou moins chez Pseudomonas mallei, démasquant ainsi des antigènes sous-jacents disparates.

Les pertes structurales et fonctionnelles que présentent Pseudomonas mallei par rapport à Pseudomonas pseudomallei peuvent être interprétées, phylogénétiquement, comme le tribut payé par un germe pour s'adapter à un mode de vie particulier.

Plus précisément, il semble y avoir une évolution depuis le mode de vie de Pseudomonas pseudomallei, germe hydrotellurique, touchant toutes les espèces animales, vers le mode de vie du Pseudomonas mallei, germe nécessitant un hôte animé, à contagion interanimale, atteignant électivement les solipèdes.

En conclusion, on peut penser, avec FOURNIER⁵⁴, qu'il y a eu une adaptation à la vie parasitaire à partir d'un archétype dont Pseudomonas pseudomallei est beaucoup plus proche.

Chapitre III

EPIDEMIOLOGIE

A - EPIDEMIOLOGIE ANALYTIQUE

I - SOURCES DE L'INFECTION - MATIERES VIRULENTES

1/Origine hydrotellurique - Notion de "site"

A la suite des travaux de STANTON & FLETCHER¹², il fut classiquement admis que la Mélioïdose était enzootique chez les petits rongeurs commensaux ou semi-commensaux des élevages et des habitations et qu'ils constituaient le réservoir du germe, la transmission s'effectuant par la souillure des aliments, par leurs déjections.

L'étude effectuée par COOK, en Australie, établissant que les petits rongeurs sauvages étaient plus souvent porteurs d'anticorps antibacille de Whitmore que les autres habitants d'une région d'enzootie, constituait un argument en faveur de l'hypothèse précédente.

Cependant, le rôle des rongeurs dans le maintien du germe est minime par rapport à celui des eaux par exemple :

- sur 20 000 rats "euthanasiés" à Saïgon, DELBOVE & REYNES, en 1942, n'ont isolé qu'une seule souche.

- sur 560 rats à Hanoï, VAUCEL n'en isola aucune.

La marquage sérologique des rongeurs peut être en relation avec leur mode de vie fouisseur, les exposant plus à une contamination tellurique.

L'origine hydrotellurique de la Mélioïdose a été prouvée, en particulier CHAMBON, par culture directe, prouva la permanence du bacille sous forme pleinement virulente dans les eaux de surface de lieux privilégiés appelés "sites" à Mélioïdose, ou "pockets".

Ces sites, localisés dans le foyer originel du Sud-Est Asiatique ont un faciès précisé par de nombreux auteurs (NOUTH-KIMLENG-BOUNTHA-FOURNIER¹³).

Il s'agit de plaines basses, sous climat uniformément chaud et humide, avec des pluies abondantes entraînant des inondations et des eaux stagnantes. La végétation y est luxuriante, le cheptel abondant.

On constate que cette description correspond bien aux plaines à rizières de la zone intertropicale.

2/Nouvelle niche écologique

La notion de "site" a été bouleversée par la découverte du germe dans le sol de zones ne correspondant en rien à la description classique.

- Dans les régions sèches et sablonneuses : Tchad - Australie
- En altitude : Dalat - Tananarive - Iran
- Dans les régions où règne une longue saison sèche : Haute-Volta - Niger - Iran
- A Paris - Haïti - Brésil - USA

La nature tellurique de l'affection, sur des sols très différents des "sites" a été mise indirectement en lumière par CHOVE au cours de l'épizootie ayant atteint le zoo du Jardin des Plantes. Il a été mis en évidence une corrélation étroite entre la sérologie des animaux et le sol sur lequel ils vivent : ceux vivant au contact direct d'un sol contaminé ayant plus de risques de s'infecter que ceux vivant sur du ciment ou du dallage.

La thèse de GALIMAND⁵¹ consistant en des numérations du germe sur le sol d'un terrain contaminé (Hippodrome du Grand Parquet dans la forêt de Fontainebleau), isolé de façon à ce qu'aucune personne, ni aucun cheval ne puissent y pénétrer, aboutirent aux conclusions suivantes :

- la présence du germe dans le sol de région tempérée n'est pas due seulement à l'existence d'animaux excréteurs, au contraire, il est capable de survie et de multiplication.

3/L'ensemencement du sol

Il peut être le fait de différents agents :

- les animaux excréteurs,
- les carcasses contaminées, on constate que les zones où le bacille a été décelé sont généralement des zones où le cheptel abonde.
- l'homme excréteur.

4/Matières virulentes chez le malade

Elles sont variées :

Sang, lymphe, crachats, urine, fécès, déjections d'arthropodes, jetage, lait (avec risque de contamination par les fromages doux), sécrétions prostatiques, carcasses.

5/Véhicules

L'extension d'un foyer peut se faire par :

- le vent
- le transport de fourrage ou de fumier
- le transport d'objets souillés
- les chaussures.

II - PERSISTANCE DE LA CONTAMINATION-RESISTANCE DU GERME

1/Facteurs physiques

Température :

- A la température du laboratoire il garde sa vitalité trois à quatre mois en eau peptonée, six à huit mois sur gélose.
- Il résiste au moins 27 jours dans des poussières à 27°C, au moins trois ans dans des terres à 4°C.
- Sa virulence diminuerait sous climat froid¹⁰⁸ mais il résiste dans le sol au moins jusqu'à -6°C.⁴⁹
- Il est détruit en 10' par le chauffage à 56°C.

Ultra-violets :

- Il est très sensible aux ultra-violet

s. (destruction d'une population de 108 germes par 4' d'exposition avec une lampe de 15W donnant une émission d'ultra-violets pour 80 à 90% dans la raie germicide de 253,7 nm).

2/Facteurs chimiques

Il est détruit en deux minutes par le sublimé à 6% .

- en dix minutes par le formol à 0,5% ou
- acide phénique à 1%
- par une solution de NaCl à une concentration supérieure à 4%
- par l'eau de javel diluée : trois degrés chlorométriques (en deux heures dans une solution à 2 ppm de chlore)
- par le crésol à 2%

3/Facteurs biologiques

Bile et sels biliaires lui sont néfastes (ne cultive pas sur milieu SS).

Il survit au moins trois ans dans le fumier³⁵, 10 à 12 jours dans un cadavre, 17 jours dans l'urine et peut rester virulent très longtemps dans des produits pathologiques (pus, jetage, crachats).

Bien que ne sporulant pas, Pseudomonas pseudomallei est doué d'une grande résistance.

III - RECEPTIVITE

1/Facteurs intrinsèques

a) Espèce

- Les animaux à sang froid sont très résistants : expérimentalement, sur 18 inoculations (batraciens) une seule rétroculture s'est avérée positive.

- Les oiseaux sont parfois sensibles (pigeons)⁹³

- Les mammifères sont les plus sensibles : rongeurs, caprins, bovins (qui sembleraient présenter une certaine résistance)¹² et surtout ovins, porcins, équidés.

b) Race

Les races sélectionnées sont plus sensibles que les races rustiques. Par exemple, au Cambodge, ce sont les porcs sélectionnés, (importés du Japon et d'Australie) qui furent le plus touchés.

c) Sexe

Dans l'espèce humaine l'homme est plus souvent atteint que la femme³⁰, ce qui semble dû à des risques de contamination différents liés à des modes de vie différents car on n'observe rien de semblable chez les animaux.

d) Age

Les jeunes s'avèrent particulièrement sensibles : en Afrique³¹, les pertes sont lourdes avant le sevrage puis chez l'adulte on observe une certaine résistance confirmée parfois à l'autopsie par la présence de lésions calcifiées.

e) Individu

De façon générale, la notion de "terraid" débilité est primordiale en ce qui concerne la mélioïdose. Les exemples foisonnent :

- Absorption de morphine chez les premiers sujets étudiés par WHITMORE.

- A Paris, parmi l'ensemble du personnel de la Ménagerie, le seul sujet à avoir présenté des signes cliniques était atteint d'éthylisme.

- Aux USA la mélioïdose a constitué une "bombe à retardement vietnamienne" chez les GI'S" les sujets ne manifestant de signes cliniques que plusieurs années après leur retour de zone endémique, à la faveur de l'existence concomitante de facteurs favorisants.

Ces facteurs favorisants sont multiples :

- Effort intense (signalé par DAVIE & VELLS³² chez le cheval)
- Stress (sevrage, transport, accident)
- Maladie intercurrente
- Blessure
- Intervention chirurgicale etc...

2/Facteurs extrinsèques

a) Sol

Les travaux de GALIMAND ont montré que la nature de la terre intervient dans la possibilité d'implantation du germe.

La flore microbienne naturelle interfère avec le développement du germe et il semblerait qu'il s'établisse un équilibre bactériologique, cet équilibre serait bouleversé, lors de l'implantation de Pseudomonas pseudomallei, qui tendrait à constituer une part croissante des germes totaux.

b) Climat

L'influence de la saison n'a pu être bien établie, cependant, GALIMAND a montré que les variations climatiques entraînent des variations de larges amplitudes dans la population du germe (en surface et en faible profondeur), alors qu'elles influent peu sur la population en germes totaux.

c) Hygiène

Une hygiène défectueuse joue un rôle important à deux niveaux :

- En diminuant la résistance du sujet (ex. mauvaise hygiène alimentaire) elle favorise l'apparition de la maladie qui on l'a vu se manifeste souvent sur un sujet affaibli.

- Elle favorise les risques de contamination (ex. manque de pansage chez le cheval, alimentation souillée).

d) Germe

Trois paramètres semblent intervenir :

- La virulence de la souche
- La quantité de germes envahissant l'organisme
- La voie d'introduction

Pour que la maladie se déclare chez un sujet, il faut que deux conditions se trouvent satisfaites :

- Présence d'un grand nombre de germes en un lieu donné
- Conditions individuelles de réceptivité.

IV - MODES D'INFECTION

La contamination interanimale semble exceptionnelle⁶³ : dans l'épizootie du Jardin des Plantes, la maladie a atteint des sujets n'ayant pas de contact physique entre eux.

C'est la contamination "de pâture" qui est à l'origine de l'infection, ce qui entraînera un certain nombre de conséquences quant à la prophylaxie de la Mélioïdose, maladie à réservoir hydro-tellurique.

La contamination interhumaine est, de même, rare : à ce titre les malades n'étaient pas isolés dans les hôpitaux du Sud-Est Asiatique.⁷⁴

La transmission de l'animal à l'homme semble très occasionnelle :

- par des manipulations maladroites de carcasses,
- par l'intermédiaire d'arthropodes hématophages.

Des transmissions ont été possibles aux rongeurs par la puce du rat (Xenopsylla cheopis)¹¹ et par les Stegomyia.

V - VOIES DE PENETRATION

1/Expérimentalement

Toutes les voies utilisées entraînent la maladie, sous réserve que la dose de germe administrée soit suffisante : intranasale, intra-conjonctivale, intraveineuse, intramusculaire, intrapéritonéale, transcutanée, aérosol. La voie digestive est cause d'échecs.

2/Dans les conditions naturelles

Les portes d'entrée les plus courantes du germe sont :

- Les muqueuses respiratoires : Ex. porcs d'Afrique s'infectant en fouissant l'eau à l'aide de leur groin.⁶⁴

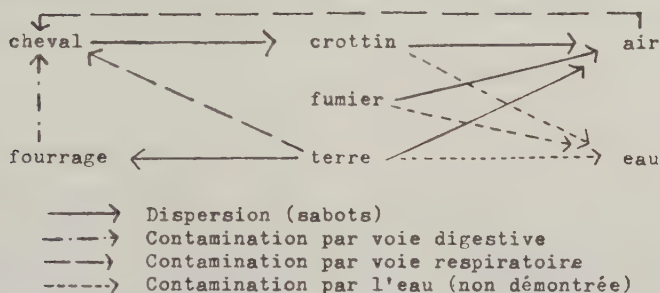
- La peau : Dans le Sud-Est Asiatique, l'infection a été souvent décrite à la suite de la souillure d'une plaie par de l'eau ou de la terre contaminée. A ce sujet, il a été noté une diminution de l'incidence de la maladie touchant les soldats américains lors du remplacement de marches forcées par des transports en hélicoptère. Une lésion cutanée (ex. furonculose)¹¹, une plaie accidentelle ou chirurgicale (ex. bouclage du porc) ont pu être mises en cause.

- Voie digestive : Les cas équins connus en France (Jardin des Plantes, Ouest parisien) semblent devoir être rapportés à une pénétration digestive. Les éléments en faveur de cette hypothèse sont :

- Présence fréquente du germe dans les crottins,
- Manifestation clinique à dominante digestive,
- Tableau lésionnel différent du tableau classiquement décrit.

On pense donc que le cheval se contamine par ingestion de fourrage contaminé, souillé par des crottins ou par la terre véhiculée sous les sabots, cette contamination semble d'autant plus facile que le fourrage est de mauvaise qualité, présentant des chardons par exemple (comme ce fut le cas peu avant l'épizootie du Jardin des Plantes), ce qui entraîne des blessures de la muqueuse buccale.

VI - CYCLE POSSIBLE DE DISPERSION ET CONTAMINATION DE PSEUDOMONAS PSEUDOMALLEI CHEZ LE CHEVAL (d'après GALIMAND)



B - EPIDEMIOLOGIE SYNTHETIQUE

I - EXTENSION GEOGRAPHIQUE DE L'INFECTION

1/Dans le monde

Après avoir été longtemps cantonnée au foyer du Sud-Est Asiatique il s'avère (cf. historique) que la mélioïdose n'ait pas de localisation géographique précise. Elle apparaît plus méconnue que réellement rare, d'où l'intérêt des recherches épidémiologiques dans ce domaine.

2/En France

A la suite de l'épizootie du Jardin des Plantes, les recherches ont été orientées vers des lieux ayant eu des contacts avec le zoo :

- Les régions de Chèvreloup, Brie-Comte-Robert, ont été contaminées par transport de fumier.

- Le zoo de Mulhouse, un particulier de la région de Blois, par des transferts d'animaux.

- Les casernes parisiennes de la Garde Républicaine de Paris et de l'Ecole Militaire (cf. recherches personnelles).

- Les effectifs équins militaires de différentes régions : le germe a été trouvé à Senlis, Coëtquidan, Fontainebleau. Les effectifs peu nombreux, de Marseille, Apt, Draguignan, Orange, ne semblent pas contaminés.

- Dans les clubs hippiques : le germe a été souvent retrouvé dans les Yvelines, dans un club de Seine & Marne, à Chantilly, dans la région de Fontainebleau, de Versailles, des Charentes, du Maine & Loire.

- Des antilopes mortes dans l'Orléannais, où elles étaient nées, recelaient Pseudomonas pseudomallei dans leurs organes.

- Des prélèvements aléatoires se sont révélés positifs dans les Dombes, en Essone.

L'hypothèse d'un foyer original unique est crédible, son origine pourrait être liée à l'importation d'animaux exotiques.

Un deuxième foyer indépendant a été mis en évidence dans l'Essone, son apparition est due à l'importation massive de poissons exotiques de Singapour et de Hong-Kong en containers plastiques remplis d'eau contaminée.

Il a pu être à l'origine d'une dissémination dans des champs en Normandie et des égouts parisiens.

II - FORMES EPIDEMIOLOGIQUES

1/Formes inapparentes

Les études faites au Sud-Est Asiatique, en particulier par FOURNIER, ont montré que dans le cheptel autochtone la maladie frappait électivement les jeunes animaux. Ces cas, sporadiques, entraînent une mortalité notable des jeunes.

Les adultes quant à eux, présentent une certaine tolérance vis à vis de la maladie car prémunis par des infections inapparentes contractées dans le jeune âge.

Des études sérologiques, tant chez l'homme que chez l'animal ont montré que les populations adultes présentaient un nombre élevé de sujets à sérologie significative vis à vis de Pseudomonas pseudo-mallei.

Ces formes inapparentes, apparaissant sur des animaux plus âgés, qui réagissent à l'infection seulement par une sérologie positive, sont dues soit à une quantité de germes inoculés trop faible, soit à une résistance acquise.

Ces formes semblent évoluer vers la disparition totale du germe de l'organisme en six à sept semaines, la disparition du germe ne signifiant pas la disparition des anticorps.

Des travaux bactériologiques ont montré l'existence de porteurs sains, il semble que le porc puisse jouer un rôle particulier en tant que tel (par exemple : FERRY a isolé, au cours d'une année, le germe sur 5% des porcs, généralement en bon état d'entretien, issus de Haute-Volta).

Ces formes latentes, diagnostiquées à l'abattage, par lésions constituées par des abcès profonds (rate, foie, rein) permettent la contamination du germe par l'urine ou les fèces.

Cette notion de porteur sain a été précisée dans la région de l'ouest parisien sur 24 chevaux bien portants, stationnés en milieu infecté, sept excrètent le germe.

Ces animaux constituent des sources occultes de contamination des sols et de dissémination lors d'importations.

2/Formes apparentes

Toujours dans le Sud-Est Asiatique, à l'opposé de ce que l'on a vu pour le bétail autochtone, les animaux importés sont atteints de mélioïdose sous forme d'épizootie à allures explosives.

Ces animaux "neufs" jouent le rôle de "révélateur" de l'infection.

On doit rappeler l'importance des divers facteurs de réceptivité qui peuvent permettre une éclosion de la maladie.

Cette notion épidémiologique de "révélateur" que peut jouer une population "neuve", met en lumière le risque que peut courir un cheptel de ce type lors de l'importation de l'infection.

Alors que dans des foyers anciens sur un cheptel autochtone on n'observe que des cas inapparents ou latents, ou sporadiques aigus surtout chez les jeunes, sur un cheptel neuf ou dans un foyer récent on observe des épizooties sévères.

III - MORTALITE - MORBIDITE

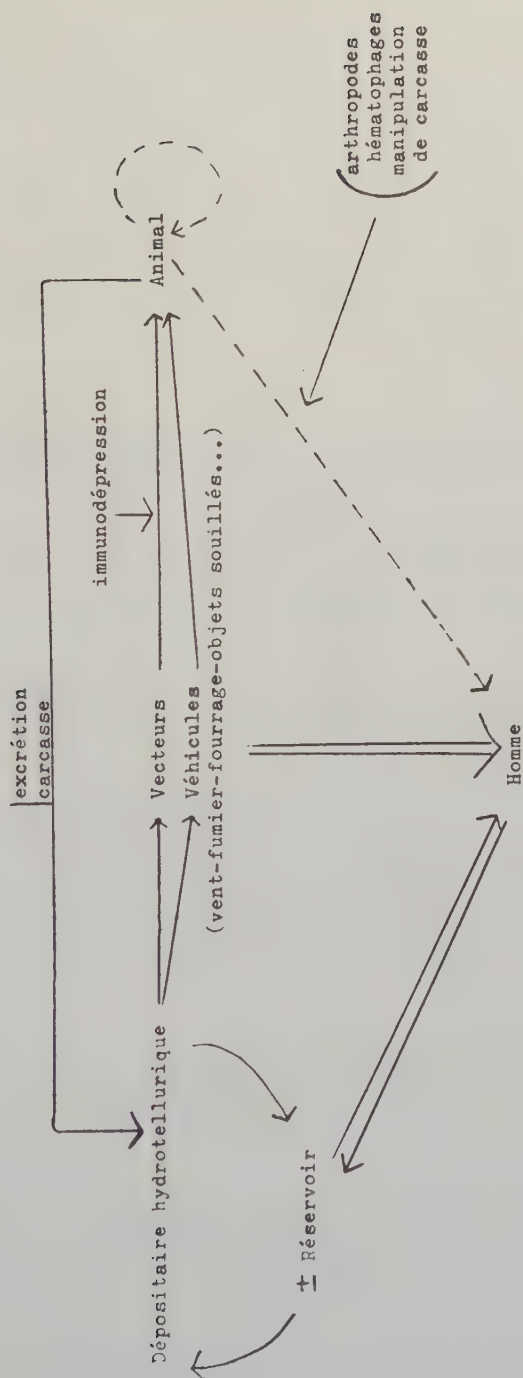
On a vu que ces paramètres sont sujets à des variations fondamentales en fonction de la forme épidémiologique. On peut citer l'étude faite en France.

	Nombre d'exploitations atteintes	Pourcentage de chevaux atteints		
		≤ 5%	≤ 20%	> 20%
Exploitations de moins de 10 chevaux	6	non significatif		
Exploitations de plus de 10 chevaux	36	15	19	2

Dans ce cas la morbidité s'élève à 10%, la mortalité à 4%.

Au total l'épidémiologie se révèle très complexe à partir d'un dépositaire hydrotellurique et de réservoirs multiples pour affecter de nombreuses victimes animales, et l'homme, par l'intermédiaire de vecteurs très divers, y compris arthropodes.

SCHEMA D'ECOEPIDEMIOLOGIE



Chapitre IV

ETUDE CLINIQUE ET NECROPSIQUE

A - SYMPTOMES

Quelle que soit l'espèce affectée, la mélioïdose présente une symptomatologie très protéiforme, cela est illustré par COLLENS & DORBEY²¹ "Le seul caractère fixe de l'infection est de ne se prêter à aucune description standard. Le polymorphisme est la seule constante signalée par tous les auteurs".

L'incubation s'étend sur une période très variable : de quelques jours à quelques années. Cela doit être rapproché de la présence de porteurs, apparemment sains, qui ne manifestent une expression clinique de la mélioïdose qu'à la faveur de facteurs favorisants divers (cf. Réceptivité).

L'évolution clinique est très variable : on peut observer des formes suraiguës, foudroyantes, évoluant vers la mort en quelques jours ou même en quelques heures, des formes aiguës, des formes subaiguës évoluant sur plusieurs mois et des formes localisées chroniques évoluant sur plusieurs années.

D'après PONS & DODIN, l'évolution serait plus fonction de la voie d'entrée et du nombre de germes que de la virulence de la souche.

La mélioïdose est comme la morve, dont elle est indistinguishable cliniquement, une maladie suppurative évoluant selon trois modes : septicémique, septicopyohémique, localisé. Ces différents modes peuvent d'ailleurs se succéder chez un même individu : une forme localisée à allure bénigne peut devenir septicémique ou septicopyohémique.

I - CHEZ L'HOMME

Dans les formes aiguës on peut observer une hyperthermie, un état de tупhos, souvent des céphalées, de la dyspnée, des myalgies, des arthralgies. L'évolution septicémique est d'emblée le plus souvent mortelle avant la mise en oeuvre de tout traitement.

Dans l'évolution septicopyohémique, les symptômes s'apparentent à ceux de la tuberculose pulmonaire, avec souvent association de staphylocoques pathogènes.

Dans les formes localisées purulentes le germe peut se localiser à n'importe quel organe, il présente un tropisme pour le foie, le poupon, les muscles, le territoire lymphatique et surtout pour le tissu osseux.

II - CHEZ LES BOVINS

Bien que la rareté des cas signalés suggère une relative résistance des bovins, NICHOLLS³⁰ à Colombo, relate la mort brutale, sans signe clinique, d'une vache dont l'autopsie révéla la rupture d'un volumineux abcès de la rate dans la cavité péritonéale d'où le Pseudomonas pseudomallei a été isolé du pus.

LAW³⁶ & HALL signalent que des symptômes d'encéphalite suraiguë peuvent survenir quelques heures avant la mort.

Deux cas ont été décrits dans la même exploitation du Sud-Est du Queensland en Australie par KETTERER & COLL³² trois semaines après une inondation qui semble avoir joué un rôle déterminant dans l'apparition de ces cas :

- Une vache gestante, élevée depuis huit ans dans cette exploitation, présentait une hyperthermie = 42°C, une respiration haletante, rapide, une salivation abondante et continue. Si on l'obligeait à se lever, elle se déplaçait le dos voussé, avec une démarche raide. Un traitement antibiotique (pénicil. 6M - strept. 6g) n'a pu éviter la mort le lendemain. A l'autopsie il fut découvert une pneumonie (également présente chez le fœtus), une endométrite et une placentite.

- L'autre cas concerne un mâle Hereford de 4 ans, qui présentait à la suite de l'inondation, une plaie profonde du jarret gauche. Un parage chirurgical et un traitement médical (pénicilline - streptomycine corticoïdes) n'entraînèrent pas de cicatrisation de la plaie qui gardait un mauvais aspect. Il s'en suivit une arthrite aiguë au niveau du jarret gauche et du boulet antérieur gauche, avec amaigrissement rapide. L'animal fut sacrifié : Pseudomonas pseudomallei fut isolé de lésions pulmonaires.

Un cas d'évolution plus lente, a été décrit dans une ferme où aucun cas n'avait été signalé : il s'agissait d'une vache âgée, arrivée depuis six ans d'une zone d'enzootie (Nord Queensland) réformée pour mammites, à l'autopsie il a été découvert de nombreux abcès sur la rate et le foie d'où Pseudomonas pseudomallei a été isolé.

III - CHEZ LES CAPRINS

En 1951, le germe a été isolé à partir de ganglion préscapulaire d'une chèvre, près de Townville en Australie, qui présentait à l'autopsie des aires d'hépatisation pulmonaire et des abcès ganglionnaires.

Les symptômes sont variés : troubles digestifs (entérite hémorragique) nerveux (parésies, encéphalites), pulmonaires (dyspnée, toux rebelle, râles à l'auscultation), articulaires (arthrite). La prostration et l'amaigrissement sont souvent de règle.

Des formes d'évolution chronique peuvent se localiser à divers organes : mamelles - utérus - articulation.

IV - CHEZ LES OVINS

Dans cette espèce, la maladie affecte surtout le système locomoteur et le poulmon, on peut observer des tremblements, des grincements de dents, une semi-paralysie du train arrière (du fait d'une compression médullaire due à un abcès vertébral), des difficultés au relever, une démarche chancelante avec un état de faiblesse générale, du

nystagmus, une salivation abondante, des arthrites, de la conjonctivite et des méningo-encéphalites suppurées.

L'atteinte pulmonaire se manifeste par une toux rebelle, rappelant la bronchite vermineuse, avec des râles humides, pouvant entraîner une cyanose des muqueuses et une détresse respiratoire. Il y a pneumonie, éventuellement associée à une pleurésie.

Dans cette espèce, les dominantes lésionnelles sont la pleurésie et les abcès du poumon, ainsi que des abcès de la rate et du rein.

On a souvent recours au diagnostic post-mortem car souvent la maladie est confondue cliniquement avec d'autres entités plus fréquentes, elle se traduit par de l'amaigrissement qui aboutit au sacrifice de l'animal.

V - CHEZ LES PORCINS

Dans cette espèce, des cas sporadiques et des épizooties ont été décrites. Le porc semble être porteur sain assez fréquent.

La maladie clinique se manifeste généralement par de l'incapacité et de la prostration, une hyperthermie, de la diarrhée, de la dyspnée, souvent une parésie du train arrière. Des avortements ont été signalés : à la suite d'un avortement le germe a été isolé dans le foie et le rein du fœtus, un mois plus tard, après abattage, le germe a été retrouvé chez la mère dans un exsudat purulent de la matrice, concomitairement avec des abcès mésentériques, hépatiques et spéniques. On signale aussi des orchites avec hypertrophie testiculaire.

L'évolution de la maladie semble se faire sur une période de quinze jours à quelques mois.

VI - CHEZ LES CARNIVORES

STANTON & FLETCHER ont signalé de la diarrhée, de l'ictère et des pyodermites chez des chiens porteurs de germe.

MICHAEL & STEDHAM²⁵ relatent quatre cas mortels de chiens militaires séjournant au Viet-Nam :

- cliniquement, trois d'entre eux présentaient des maladies intercurrentes (coup de chaleur-pancytopénie canine) le tableau clinique était dominé par l'anorexie, l'abattement, des signes d'épididymite et d'orchite bilatérale, d'oedème du scrotum, une faiblesse du train arrière souvent associée à des oedèmes des membres.

- Le syndrome final était caractérisé par une hyperthermie importante 40° à 41,7°C précédée parfois d'épisodes fébriles.

- Sur le plan lésionnel, l'atteinte était surtout pulmonaire et génitale : les quatre sujets présentaient des lésions des poumons, des testicules et de l'épididymite, l'un ou plusieurs des chiens, des lésions de la rate, du foie, des reins ou d'autres organes.

Chez les quatre chiens le Pseudomonas pseudomallei a été isolé du poumon, il a été isolé également d'autres organes.

VII - CHEZ LES RONGEURS

On a signalé des formes inapparentes et des formes apparentes avec dyspnée, écoulement oculaire et nasal muco-purulent.

Chez le cobaye et le lapin de laboratoire on note des adénopathies cervicales ou axillaires, des plaies infectées aux membres.

Chez le rat, l'évolution semble plus lente, de trois à quatre semaines, avec amaigrissement et diminution des déplacements.

VIII - CHEZ LES ANIMAUX SAUVAGES

Des cas de manifestations cliniques très protéiformes ont été décrits chez les primates : Kangourou, chimpanzé, orang-outan et des mammifères marins : des dauphins de Gill, qui semblent très sensibles puisque la maladie a évolué sur un mode suraigu, avec une mortalité de 90 à 95%, favorisée en cela par le fait que les animaux avaient été capturés récemment donc plus fragiles.

La manifestation clinique était surtout gastrique : gastrite suraiguë mortelle ou évoluant sur une à plusieurs semaines avec vomissements, anorexie, léthargie.

IX - CHEZ LES EQUINS

Alors que classiquement la symptomatologie la plus souvent rencontrée était à dominante respiratoire, des descriptions récentes en France, dans la région de Laval¹⁵ et dans la région parisienne³⁴ mettent surtout l'accent sur des manifestations digestives, en rapport certainement avec le mode de contamination.

La maladie peut évoluer selon plusieurs formes :

1/La forme suraiguë

On peut observer deux types de manifestations :

Dominante respiratoire : caractérisée par de l'abattement, de l'hébétéude, une gêne à la déglutition, des difficultés respiratoires, un écoulement oculo-nasal. L'animal en décubitus latéral, essaie vainement de se relever puis meurt après une phase d'agitation.

Dominante digestive : il s'agit de symptômes de septicémie grave avec hyperthermie, oedème des membres, symptômes d'hypermotricité digestive avec diarrhées parfois hémorragiques.

L'évolution se fait soit vers la mort, soit vers la guérison avec une rapidité surprenante en quelques heures.

2/La forme aiguë

Semble plus fréquente, l'aspect septicémique y est plus discret.

Dominante respiratoire : Les symptômes sont du même ordre que dans la forme suraiguë, avec hyperthermie (39°6C), difficultés respiratoires, difficultés de déglutition.

Des signes oculaires peuvent apparaître : Hypopion bilatéral kératite bilatérale avec néovascularisation entraînant la cécité. De longs filaments muqueux apparaissent aux naseaux. Un traitement symptomatique améliore plus ou moins l'état général, cependant il évolue vers la cachexie et la mort en un mois.

Il semblerait que la contamination pulmonaire entraîne lors de la maladie clinique une évolution plus rapide que lors de contamination digestive.

Dominante digestive : Les signes abdominaux sont nets : coliques légères, hypermotricité constante, ramollissement des crottins et parfois entérites.

L'hyperthermie est moins marquée, la courbe de température décrirait des clochers thermiques.

L'œdème des membres est bien visible, pouvant remonter au-dessus des jarrets et même à la partie inférieure de l'abdomen.

Cet épisode dure quelques jours. Il est assimilable à la forme subaiguë et peut durer plusieurs mois.

3/La forme subaiguë (chronique)

Elle peut exister seule ou être une conséquence des deux formes précédentes.

On note un amaigrissement important, une adynamie pouvant entraîner de l'ataxie des postérieurs, un œdème plus ou moins important des membres.

Les tests biochimiques signent une affection de type hépatique.

L'appétit reste normal. A la suite de la mise au repos, la ration est diminuée, cependant, l'hyperfonctionnement intestinal persiste: les crottins sont nombreux, généralement mous et décolorés. Des crises d'excitation, des lymphangites, de la toux avec ou sans jetage peuvent survenir. On note des clochers thermiques.

Des signes cutanés peuvent se manifester par des chutes de poils sur environ un cm², qui font penser à des lésions de teigne mais qui s'en distinguent par une élévation d'environ huit à dix mm de diamètre sur cinq à six mm de haut comme de petits furoncles en formation. Ces lésions n'ont pas de tendance abcédative.

Des avortements ont été décrits.

En conclusion, il semble que les manifestations pulmonaires soient rares, réservées aux formes septicémiques graves, au contraire, les signes digestifs d'hypermotricité sont constants, à tel point que le praticien peut être appelé en consultation pour des coliques aiguës, cependant des prodromes (adynamie, perte d'appétit) peuvent être parfois signalés.

La phase de convalescence est, en général, longue.

B - LESIONS ET ANATOMIE PATHOLOGIQUE

Les lésions de la Mélioïdose ne présentent pas de caractère pathogénomique, elles sont très semblables à celles de la morve.

I - LES LESIONS MACROSCOPIQUES

Le tableau lésionnel est dominé par l'aspect suppuratif de l'infection. Des lésions peuvent être rencontrées sur les différents appareils.

1/Appareil digestif

Il a été constaté des lésions suppurées du maxillaire, des hémorragies de la muqueuse et de la séreuse des différents réservoirs gastriques et de l'intestin, des ulcères parfois nombreux, des associations de lésions ulcéreuses et hémorragiques de l'intestin. Le foie peut être pâle et hypertrophié, parfois jaune et friable, ou marbré, parsemé de nodules petits, supra ou intra parenchymateux, d'abcès milliaires multiples ou peu nombreux et volumineux. Le pancréas et l'épiploon peuvent présenter des abcès.

2/Appareil respiratoire

Les lésions peuvent siéger tout le long de l'arbre respiratoire : rhinite congestive, lésions suppurées des cavités nasales, inflammation des muqueuses du pharynx et du larynx, lésions de pneumonie à tous les stades évolutifs, zones grisâtres de nécrose et lésions de collapsus, tâches congestives en mosaïque, inflammation purulente des plèvres ou formations fibreuses avec épaississement, présence de liquide citrin dans la cavité thoracique.

3/Appareil circulatoire

Il a été décrit des péricardites avec augmentation de la quantité de liquide péricardique devenant hémorragique, purulent ou de couleur citrine.

Le coeur peut être l'objet d'endocardite valvulaire, présentant des nodules endocardiques, des hémorragies sous-endocardiques et sous-épicaudiques.

4/Appareil urinaire

Le rein peut être congestionné, présenter des infarctus rénaux blancs et rouges, des abcès. Des glomérulites exsudatives fréquentes seraient dues à un phénomène de SCHWARTZMAN.

5/Appareil locomoteur

Le liquide synovial peut augmenter de volume, devenir floconneux, des dépôts fibrineux peuvent se former au niveau d'articulations. La suppuration existe sous forme de myosites ou d'ostéites purulentes.

6/Appareil génital

Chez la femelle il a été mentionné des lésions d'hypertrophie et de dégénérescence des cotylédons, des plaques faisant saillie de trois à quatre mm, bien délimitées, de grande taille sur la muqueuse intercotylédonnaire.

Chez le mâle, des lésions hémorragiques et purulentes avec hypertrophie peuvent atteindre les testicules, l'épididyme, des abcès toucher le canal déférent, des abcès se multiplier sur une prostate hypertrophiée.

7/Système nerveux

La suppuration peut engendrer des micro-abcès du cerveau, des méningo-encéphalites et méningo-myélites purulentes, des abcès de la colonne vertébrale avec compression médullaire.

Il a été également noté de la congestion méningée, parfois une hyperproduction de liquide cérébrospinal riche en neutrophiles, des lésions médullaires dégénératives.

Des cas de maladie primitive du névraxe sont signalés à Saïgon.

8/Système réticulo-endothélial

La splénomégalie est fréquente, de même que l'existence de volumineux abcès spléniques. Les ganglions les plus atteints sont les mésentériques, médiastinaux, ceux drainant la région d'entrée du germe. Ils sont hypertrophiés, succulents à la coupe, parfois hémorragiques, abcédés ou nécrosés.

9/Autres appareils

Pour mémoire, on peut citer des lésions suppuratives sous-cutanées, des abcès surrénaliens chez les bovins, des lymphangites, des lésions foetales d'anasarque.

La diversité des lésions macroscopiques rencontrées ne permet pas de porter un diagnostic nécropsique précis.

Par ailleurs, l'aspect suppuratif peut ne pas être aussi évident : des chevaux de l'ouest parisien présentaient seulement des micro-abcès.

II - HISTOPATHOLOGIE

1/Dans les formes suraiguës

Un examen minutieux permet de trouver quelques granulations miliaries, à centre nécrotique, dans différents viscères.

2/Dans les formes aiguës

On peut observer dans tous les viscères des nodules à frange hémorragique de 0,1 à 2 cm. de diamètre. A prédominance histiocytaire, ils contiennent en leur centre une substance amorphe, éosinophile, riche en débris nucléaires.

Ces nodules, fréquents dans les poumons, sont limités par un tissu pulmonaire siège d'une pneumonie exsudative bronchogène. Ces lésions sont riches en bacille de Whitmore.

3/Dans les formes subaiguës

C'est dans ces formes qu'il faut chercher les lésions caractéristiques de la Mélioïdose, d'images en "cocarde" : après coloration à l'hémalum éosine on observe des bandes circulaires, d'un violet foncé dues à l'accumulation épithélioïde, en contraste avec la coloration rose de la nécrose interne et de la réaction histiocytaire externe.

A la périphérie, une zone fibroblastique est le siège de dépôts fibrinoïdes et de suffusions hémorragiques, traduction de réactions allergiques, sans cesse remaniée elle peut constituer une coque fibreuse, obstacle à l'extension de la lésion et la dissémination. Les nodules confluent rapidement et fusionnent, d'où dislocation des "cocardes", les amas épithélioïdes prenant l'aspect de bandes violettes plus ou moins sinueuses.

4/Dans les formes chroniques

A défaut d'y rencontrer des images typiques, on observe les zones de nécrose centrales et les franges épithélioïdes. Elles sont généralement pauvres en bacille de Whitmore.

Chapitre V

LUTTE CONTRE LA MELIOIDOSE

A - DIAGNOSTIC

La grande variété des tableaux cliniques et lésionnels, sans signe pathognomonique, fait reposer essentiellement le diagnostic de la mélioïdose sur des méthodes de diagnostics expérimentaux.

Ces méthodes et en particulier trois d'entre elles réalisées dans notre étude, seront étudiées plus en détail dans la deuxième partie. Cependant, le vétérinaire dispose d'éléments d'ordre épidémiologique, clinique et paraclinique qui doivent orienter vers le diagnostic de mélioïdose, dont seul le laboratoire pourra donner confirmation.

I - ORIENTATION EPIDEMIOLOGIQUE

Les travaux récents ont prouvé que la mélioïdose ne devait plus être considérée comme une maladie tropicale, mais que des foyers existent en France.

En tant qu'épidémiologiste, le praticien doit s'informer de l'origine de l'animal, son attention sera éveillée dans les cas :

- d'animal exotique, provenant du foyer originel du Sud-Est Asiatique ou plus généralement d'une zone d'enzootie.

- d'animal provenant d'une région où le germe a été mis en évidence chez l'animal ou dans le sol, d'une région où la présence du germe a été suspectée par des diagnostics sérologiques ou allergiques positifs.

Cependant, on devra faire preuve de la plus grande méfiance car les foyers, s'ils ne sont pas de plus en plus nombreux, sont en tous cas, de plus en plus nombreux à être identifiés.

Il convient également de recueillir des commémoratifs concernant d'éventuels facteurs débilitants (cf. Réceptivité) dont on a vu l'importance capitale dans la manifestation clinique de la maladie.

II - ORIENTATION CLINIQUE ET PARACLINIQUE

1/Orientation clinique

Du fait de l'extrême variabilité des symptômes, l'examen clinique ne peut que donner une suspicion. De plus, cette valeur est relative car la présence d'une autre entité pathologique, jouant un rôle de facteur favorisant, peut favoriser une mélioïdose intercurrente.

Chez l'animal des signes divers doivent attirer l'attention : adynamie, oscillations thermiques, perte d'appétit, amaigrissement.

Lors d'épizootie, toute affection aiguë, à moins d'être rattachée sans ambiguïté à une autre affection, doit être traitée comme mélioïdose, éventuellement avant confirmation du laboratoire si le délai de réponse s'avère trop long, en regard de l'évolution clinique.

2/Orientation paraclinique

a) Analyse sanguine

On peut noter :

- une augmentation de la vitesse de sédimentation
- une leucocytose avec souvent neutrophilie relative
- une monocytose, fréquente en période initiale
- une neutropénie initiale, ou au cours de maladies non traitées, une granulopénie.
- une augmentation de l'azotémie, du taux de bilirubine et parfois d'urée.
- une diminution de la natrémie.

b) Analyse d'urine

Les urines peuvent être rares et foncées (ces variations seraient dues à l'atteinte hépatique) ou purulentes si l'arbre urinaire est le siège d'une localisation.

c) Radiographie

Dans les formes pulmonaires, les signes radiologiques apparaissent bien avant les signes perceptibles à l'auscultation.

Les images, indifférenciables de la tuberculose, évoquent un phénomène suppuratif :

- Images d'infiltrations diffuses ou floconneuses, opacités denses et homogènes, à bords flous.
- Pertes de substance à contours réguliers ou non.
- Evolution vers la pyosclérose, avec signes de symphyses pleurales, opacités rétractées, avec images d'emphysème.

Plus tardivement ces lésions se manifestent par des signes décelables à l'auscultation, sans rapport avec l'importance des lésions : dans les formes aiguës, bruits de congestion et d'exsudation, dans les formes subaiguës : signes de condensation, puis de pertes de substance ainsi que des râles humides, sous-crépitants ou bulleux.

III - DIAGNOSTIC DIFFERENTIEL

La mélioïdose doit être distinguée :

- dans ses formes aiguës : de toute autre infection aiguë
- dans ses formes subaiguës : de la tuberculose, de staphylococcies
- dans ses formes chroniques : de toute infection à germes pyogènes banals.

Le recours au laboratoire est indispensable tant sur le vivant que sur le cadavre.

En fonction de l'espèce, le diagnostic différentiel s'oriente différemment.

Chez l'homme : choléra, peste, typhoïde, tuberculose, paludisme, staphylococcies, mycoses cutanées, variole.

Chez les bovins : encéphalites, bronchites vermineuses, entérites à anaérobies.

Chez les petits ruminants : toxémie contagieuse, listériose, toxoplasmose, lymphadénite caséeuse à caryocystis, ovic, bronchite verineuse.

Chez les porcins : pneumopathies diverses, streptococcie, mycobactériose, rouget, maladie de l'IAAD.

Chez les carnivores : maladie de CARO et gastro-entérite infectieuse.

Chez les ruminants : pasteurellose.

Chez les chevaux :

- la forme suraiguë : crise de coliques aiguës. Dans ce cas, l'action assez spectaculaire du chloramphénicol, en intrapéritonéal, constituera un diagnostic "thérapeutique", avec évolution subaiguë longue.
- la forme aiguë : leptospirose, piroplasmose (frottis-sérologie) salmonellose, artérite à virus, anémie infectieuse (test de MINT)
- la forme chronique : infiltration parasitaire (copro-formule sanguine). Très souvent les deux affections sont associées. Leptospirose (L. australis)

Dans les manifestations à dominante respiratoire, à distinguer de : la gourme, la morve (indifférenciable sous toutes ses formes de la mélioïdose)

B - TRAITEMENT

I - BASES ET CONDUITE DU TRAITEMENT

Le traitement, chez l'homme ou l'animal, repose sur le fait que le bacille de Whitmore est sensible à peu d'antibiotiques. En pratique, le seul à utiliser est le chloramphénicol.

Pour mémoire, l'association sulfaméthoxazole 30mg/Kg/J. + triméthoprime 6mg/Kg/J., en deux prises journalières pourrait être utilisée seule ou associée au chloramphénicol.

Par ailleurs, une flore bactérienne variée est souvent associée au Pseudomonas pseudomallei (Pseudomonas aeruginosa - staphylocoques - bacille tuberculeux).

Des résistances peuvent apparaître au début ou au cours du traitement suite :

- à l'emploi d'antibiotique inactif sur Pseudomonas pseudomallei du fait d'une erreur diagnostique.
- à l'emploi d'une dose insuffisante de chloramphénicol.
- à l'interruption trop précoce du traitement.

Par conséquent, la conduite raisonnée du traitement repose sur :

- La réalisation d'un antibiogramme éventuellement, en début et en cours de traitement, dans la mesure où la rapidité de l'évolution clinique en permet la réalisation.
- L'emploi de dose suffisante de chloramphénicol : de l'ordre de 25 à 150 mg./Kg/J.
- La prolongation du traitement pendant une période suffisante, d'au moins une semaine et éventuellement plus longtemps (jusqu'à un mois dans la forme subaiguë chez l'homme).

Du fait de la toxicité du chloramphénicol, surtout à dose élevée pendant une période plus ou moins longue, il convient :

- de surveiller la formule sanguine. On doit savoir que le chloramphénicol peut induire une granulopénie mais que la maladie peut aussi entraîner une granulopénie avant tout traitement antibiotique.

- d'associer un traitement minéral et vitaminique.

- d'éviter des accidents, par ailleurs peu graves, d'atteinte névrotique du nerf optique qui seraient imputés au chloramphénicol.

La mise en oeuvre du traitement va être précisée en ce qui concerne les chevaux.

II - FORMES SURAIQUES

Le traitement essentiel est celui du choc septique avec utilisation de thérapeutiques classiques et notamment de chloramphénicol, sous forme de suspension, par voie intrapéritonéale 5 à 10 g. au moins pour un cheval de 500 Kg. environ.

Cette thérapeutique est mise en oeuvre lors du "syndrome colique aigu".

Lors d'épizootie, il doit être mis en oeuvre dans tous les cas d'infections aiguës, non rattachables à une autre entité pathologique, avant même confirmation du laboratoire. Compte-tenu de l'évolution rapidement fatale de ces formes et des références de médecine humaine (jusqu'à 12g. de chloramphénicol dont une partie en intraveineuse), il convient donc de "frapper" vite et fort.

III - FORMES SUBAIGUES

La même thérapeutique doit être appliquée, de façon peut-être moins massive, par exemple des succès ont été enregistrés par DESBROSSE avec un traitement de 2,5g. de chloramphénicol, deux fois par jour pendant sept jours.

Un traitement à visée hépatique doit être maintenu pendant au moins une semaine.

Curieusement, l'injection intramusculaire de chloramphénicol ne semble pas modifier sensiblement l'évolution. Dans quelques cas, le contrôle bactériologique de crottins de chevaux traités par 2,5g. matin et soir, en intramusculaire, pendant dix jours s'est révélé positif, dix jours après la tentative de traitement. Un tel résultat doit inciter à accroître les mesures d'hygiène alimentaire.

IV - FORMES CHRONIQUES

Un traitement à visée hépatique doit être associé à des règles d'hygiène strictes.

Dans le cadre de formes localisées superficiellement on peut avoir recours à un traitement chirurgical : l'incision d'un abcès peut amener la guérison. Cependant, des précautions sont à prendre pour éviter qu'une forme localisée n'évolue en septicémie. Il faut utiliser localement des antibiotiques (ex. framycétine - sulfadiazine) et associer du chloramphénicol par voie générale.

Le traitement chez l'animal pourrait être considéré comme inopportun dans la mesure où la guérison bactériologique n'est pas assurée et que le sujet "blanchi" risque de demeurer excréteur de germes, par surcroît résistants aux antibiotiques, éventualité grave si l'homme se trouve contaminé par cette redoutable zoonose. Inversement, il pourrait concourir, par une véritable désinfection interne, à la lutte contre la pollution de l'environnement et la pérennité du dépositaire hydro-tellurique.

C - PROPHYLAXIE

La Mélioïdose est une zoonose qu'aucune législation ne régit du fait du caractère récent de son extension en France.

Sa prophylaxie repose essentiellement sur des mesures sanitaires, les tentatives de prophylaxie médicale en sont encore au stade expérimental.

I - PROPHYLAXIE SANITAIRE

1/ En milieu sain

Elle consiste à éviter une contamination éventuelle et cela à plusieurs niveaux :

- aux frontières, le dépistage, sur les animaux d'importation, avec quarantaine, à l'aide de deux sérologies à huit ou quinze jours d'intervalle, serait de nature à protéger le cheptel autochtone et à diminuer les risques de création de nouveaux foyers.

- au niveau du club hippique ou de l'élevage, des mesures du même ordre sont à prendre.

L'importance de la contamination par voie digestive devrait inciter à des contrôles portant sur les fourrages, surtout lorsqu'ils proviennent de zones où des foyers ont été décelés.

2/ En milieu contaminé

L'efficacité de mesures sanitaires strictes est parfaitement illustrée par l'expérience réalisée à Fontainebleau : à la suite de la découverte du germe dans les crottins, aucun traitement spécifique n'a été entrepris mais des mesures sanitaires draconiennes ont été instituées; au bout de cinq mois, l'absence totale du germe dans les crottins a été notée bien que le germe existe encore à l'extérieur des écuries.

Les mesures d'hygiène doivent être minutieusement appliquées dans différents secteurs:

Hygiène des sols :

Si en milieu liquide, au laboratoire, de nombreux désinfectants sont actifs sur Pseudomonas pseudomallei, par contre sur le terrain on constate leur quasi inefficacité aux concentrations bactéricides en milieux liquides : si le germe disparaît temporairement en surface, il persiste en profondeur, d'où réinfection ultérieure.

En conclusion, sur un terrain naturel l'usage de désinfectants n'est ni efficace ni souhaitable du fait de son coût et de la destruction de la flore microbienne naturelle.

Par contre, il convient de drainer correctement les eaux stagnantes, de neutraliser les bourbiers, de débroussailler, de lutter contre les animaux errants.

La nature tellurique du germe rend vaine toute tentative d'assainissement définitif.

Hygiène des locaux :

Dans les boxes, les crottins doivent être sortis plusieurs fois par jour. Des désinfections régulières doivent être entreprises dans les boxes et les manèges (dans ces derniers, la faible épaisseur du terrain artificiel rend possible une désinfection efficace).

On peut utiliser du formol ou de l'eau de javel titrant au moins trois degrés chlorométriques ou une solution de crésyl.

Hygiène du personnel et hygiène générale :

Les chaussures du personnel doivent être fréquemment désinfectées, ainsi que le matériel de pansage et l'harnachement éventuellement.

Les cadavres et les fumiers doivent être manipulés avec précaution puis incinérés. Il faut proscrire en particulier le transport de fumier sous un simple filet au profit de chargement bâché soigneusement ou mieux, de benne fermée.

Par ailleurs, toute blessure cutanée doit être immédiatement et soigneusement désinfectée à l'eau de javel.

Hygiène des animaux :

Les aliments ne doivent pas être distribués au niveau du sol pour éviter une éventuelle contamination.

Les sabots doivent être l'objet de soins attentifs : curetage, désinfection.

L'utilisation éventuelle de viande ou de lait non pasteurisé est à proscrire.

3/Dépistage - Isolement

La sérologie permet à l'aide d'une cinétique d'anticorps un dépistage :

- deux sérologies en augmentation à huit/quinze jours d'intervalle doivent entraîner, éventuellement la mise en oeuvre d'un traitement en fonction de la clinique.

- Une coprologie positive doit entraîner des mesures d'isolement. Une recherche au niveau du sol permet alors de localiser le foyer.

De façon générale, il convient chez un sujet dont la sérologie croît, de faire preuve de prudence : en particulier de diminuer sensiblement le travail à fournir, voire mettre au repos, de façon à éviter tout effort qui pourrait constituer un facteur débilitant propre à favoriser une manifestation clinique. Dans le cas d'épizootie ou d'excréteurs permanents, il peut être envisagé l'abattage.

Le stade oligozootique d'amorce est le seul opportun pour effectuer une prophylaxie efficace.

II - PROPHYLAXIE MEDICALE

Des études visant à obtenir une protection immunologique efficace sont en cours d'expérimentation dans le service du Professeur DODIN. Elles tentent d'utiliser la fraction antigénique W₁₊₂ non sensibilisatrice, non toxique et non dermonécrosante.

Des résultats prometteurs ont été enregistrés :

- Chez des souris contaminées expérimentalement par voie intrapéritonéale.

- chez des chevaux situés en milieu infecté, il n'est pas apparu de mélioïdose et seulement deux cas chez des dauphins.

Il est trop tôt pour parler de vaccin mais les travaux en cours peuvent permettre de parvenir à des résultats intéressants.

III - PERSPECTIVES DE REGLEMENTATION

De découverte récente en France, cette maladie présente une importance :

- Hygénique en tant que zoonose
- Economique dans le tiers monde (Asie-Afrique) elle entraîne par la mortalité sélective des jeunes chevaux une perte de protéines alimentaires non négligeable. En Europe, les conditions socio-économiques sont différentes mais l'atteinte sélective de l'effectif équin peut présenter une certaine importance économique.
- Médicale du fait de la gravité de certaines formes.

En conclusion, ces éléments pourraient inciter le législateur à inscrire la mélioïdose sur la liste des maladies réputées légalement contagieuses et des maladies professionnelles pour certaines professions à haut risque. Cela aurait pour résultat de mieux cerner l'incidence de la maladie en France et d'en limiter son extension, grâce à la déclaration systématique et la possibilité d'une mise à jour régulière de la carte épidémiologique spécifique.

Toutefois les mesures, comme pour le charbon bactérien devraient essentiellement porter sur la lutte contre l'importation et la dissémination, car l'éradication paraît douteuse et seule reste opportune la lutte en régions "maudites" contre la surpollution locale des sols et des eaux; cet aspect s'oppose à la morve, dont l'agent responsable est un parasite de nécessité, ce qui permet une éradication grâce au dépistage allergique.

Deuxième Partie :

RECHERCHES PERSONNELLES SUR LA MELIOIDOSE
DES CHEVAUX DE LA GARDE REPUBLICAINE DE PARIS

Chapitre I

MOTIVATION ET BUT DES RECHERCHES

Lors de la fermeture, fin 1975, du Jardin des Plantes de Paris et du Parc Zoologique de Vincennes, à la suite de l'apparition de cas de mélioïdose, confirmés bactériologiquement, l'attention du responsable du service vétérinaire de la Garde Républicaine de Paris a été attirée par les risques d'une éventuelle contamination de l'effectif.

Différents facteurs incitaient à considérer cette éventualité avec le plus grand sérieux :

La proximité immédiate de deux quartiers de cavalerie de la Garde Républicaine de Paris de ces parcs zoologiques : en effet, le quartier des Célestins n'est séparé du Jardin des Plantes que par la Seine, le quartier Carnot est situé à un kilomètre du Zoo de Vincennes (par ailleurs, les patrouilles effectuées dans le bois amènent les chevaux aux abords directs des grilles du Zoo).

Compte-tenu de cette situation géographique, différents portages peuvent intervenir sur d'aussi faibles distances :

- contamination éolienne (démontrée expérimentalement)
- contamination par vecteurs :
 - Pigeons, très nombreux aux alentours du Zoo et des quartiers de cavalerie à la recherche d'aliments (graines..), l'un d'entre eux s'est révélé, à l'autopsie, porteur de Pseudomonas pseudomallei dans ses organes, au cours de l'épizootie.
 - Animaux errants :rongeurs, chats ... Un chat a également permis de mettre en évidence Pseudomonas pseudomallei dans ses organes à l'autopsie.

Par ailleurs, des contacts privilégiés ont eu lieu entre le Zoo et la Garde Républicaine de Paris, par exemple; des chevaux ont transité entre 1968 & 1974 par le Jardin des Plantes avant de séjourner à la Garde Républicaine de Paris ou d'être transportés par les camions de ce corps.

Ces éléments nous ont amené à étudier qu'elle pouvait être l'incidence de la mélioïdose sur l'effectif équin de la Garde Républicaine de Paris.

Chapitre II

MATERIEL - METHODES - TECHNIQUES

I - L'EFFECTIF

1/Répartition

Riche de plus de cinq cents chevaux, il constitue un effectif homogène. La répartition de l'effectif se fait entre trois quartiers principaux :

- CELESTINS : situé Boulevard Henri IV, en plein coeur de Paris - environ deux cents chevaux.
- CARNOT : dans le bois de Vincennes - environ cent soixante chevaux.
- SAINT GERMAIN EN LAYE : environ cent chevaux.

Différents postes disposent de façon variable de chevaux : Senlis, Chambord, Auxerre. Des chevaux sont stationnés à Fontainebleau.

Une enquête a été menée parallèlement sur les chevaux de l'Ecole Militaire : environ cent chevaux, les résultats obtenus sont à considérer du fait de la proximité des deux effectifs et de leurs échanges privilégiés.

2/Affectations

Les jeunes chevaux sont achetés, par une commission d'achat, le plus souvent à l'âge de trois ans, généralement vers la fin du printemps. Les régions d'origine sont les grandes régions d'élevage français : Normandie (50-14) Centre (03-58-71) Pays de la Loire(44-85).

Après avoir subi avec succès une visite d'achat complète, les chevaux sont affectés pendant un an à Saint Germain où est effectué le "débouillage". Puis en fonction de leurs aptitudes, ils sont affectés dans leur unité où durant un an, ils subissent un "dressage" plus adapté aux services qu'ils devront effectuer une fois devenus opérationnels.

L'immense majorité deviennent "chevaux de rang" : ils assurement les différents services et pourront être affectés à des postes en province, surtout l'été. Un petit nombre de chevaux particulièrement doués, seront orientés vers la compétition : Steeple-Chase - Concours complet d'équitation (CCE) - Concours de sauts d'obstacles (CSO). La particularité de ces chevaux, sur le plan épidémiologique, tient au fait que par les courses et les concours qu'ils effectuent, ils se trouvent en contact avec un nombre bien supérieur de chevaux, de toutes origines, en différents lieux de France; à priori, ils semblent donc plus sujets à une éventuelle contamination.

II - LES METHODES EMPLOYEES

L'étude a été effectuée à l'aide de trois méthodes de diagnostics expérimentaux :

- Bactériologique
- Sérologique
- Allergique

tous trois réalisés grâce à l'Institut PASTEUR à Paris dans le service du Professeur DODIN.

1/Diagnostic bactériologique

a) Historique

La technique décrite par ELLISON & Coll.⁴⁹ consiste à injecter au hamster des solutions de terre puis à chercher le germe par hémoculture.

Puis LEVINE, mit au point une technique d'isolement sur milieu synthétique, mais ce milieu, à base d'acide lactique, permet la croissance de nombreux germes.

CHAMBON⁵, additionne des antibiotiques auxquels résiste le bacille de Whitmore, d'où une sélection de germes résistants.

GALIMAND & Col.⁶ ont montré que la L.Thréonine possède un caractère sélectif vis à vis du Pseudomonas pseudomallei, cela a permis la mise au point d'un milieu sélectif, permettant l'enrichissement et l'isolement du germe non plus par sa résistance à un grand nombre d'antibiotiques mais par ses besoins nutritionnels. La mise au point de ce milieu sélectif à l'Institut PASTEUR évite de devoir associer la mise en évidence du germe à partir de produits pathologiques et celle, après inoculation à un animal d'expérience, comme cela était le cas auparavant.

- Milieu de LEVINE : d'après Grouwth of Malleomyces pseudomallei simple chemically, defined media.
J. Bact. 1954, 67 : 350

Acide lactique pur	5,4 g
K ₂ HPO ₄	17,5 g
MgSO ₄ , 7H ₂ O	0,125 g
FeSO ₄ , 7H ₂ O (sol.aq.0,1%)	0,7 ml
Eau distillée	q.s.p. 1000 ml
pH ajusté à 6,5 par NH ₄ OH	
Stérilisation par filtration 0,22 u	

- Modification apportée par CHAMBON

Addition d'un mélange de pénicilline-colimycine
(concentration finale 10⁴ UI)

Milieu d'enrichissement et d'isolement de Pseudomonas pseudomallei :

- Milieu liquide

<u>Base</u>	KH ₂ PO ₄	0,451 g
	K ₂ HPO ₄	1,730 g
	MgSO ₄ , 7H ₂ O	0,123 g
	CaCl ₂	0,0147 g
	NaCl	10,0 g
	Ac. nitrilotriacétique	0,200 g

Sol. métal.* 20 ml
Eau distilléeq.s.p. 1000 ml

Ajustement du PH 7,2 par KOH N

Sterilisation à 120°C pendant 20 mn.

Substrat L.thréonine $5 \times 10^{-2}M$ finale

- Milieu gélosé

Même composition + 20 g d'Agar Noble pour 1000 ml.

b) Matériel

Sur le vivant :

On peut chercher le germe dans : les crachats, le liquide d'aspiration bronchique, le jetage, le pus, les urines si il y a localisation urinaire.

En pratique nous avons recherché le germe dans les crottins (coproculture) et le sang (hémoculture).

Il semble qu'il puisse être intéressant, pour un premier dépistage, d'effectuer un prélèvement de fumier, ce qui représente un pool suffisant pour savoir si l'écurie est contaminée.

Sur le cadavre :

On doit rechercher le Pseudomonas pseudomallei dans les organes lésés (en évitant les lésions chroniques pauvres en Pseudomonas pseudomallei) dans le foie, la rate, les poumons, les reins, le caillot sanguin.

Sur le sol :

La recherche du bacille de Whitmore, germe hydrotellurique, doit se faire le plus souvent dans les boxes, les fumiers, les paddocks, les bords de mares; on le trouve plus rarement dans les manèges et les carrières sableuses.

Conditionnement des prélèvements

Lorsque cela est possible on peut procéder par écouvillonnage (jetage, pus).

Les crottins peuvent être prélevés dans une boîte propre (la stérilité n'est pas de rigueur) ou dans un gant plastique retourné.

Le sang doit être prélevé sur tube sec.

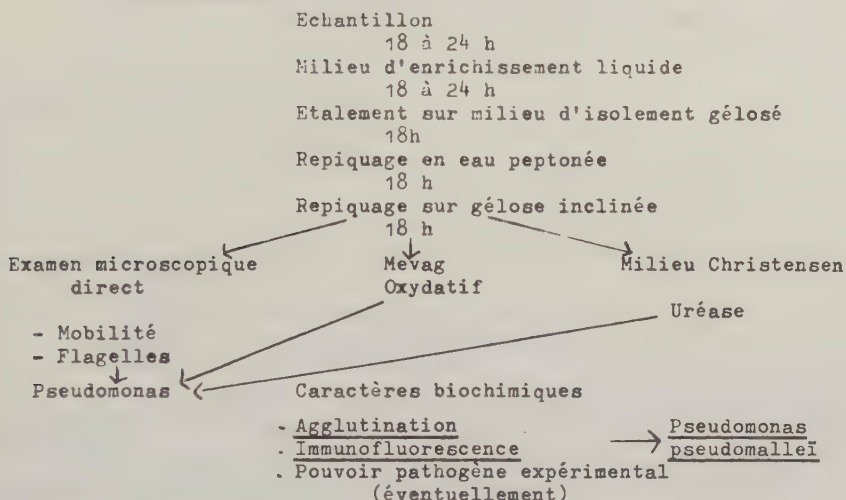
Les prélèvements d'organes : il est inutile de prélever de grosses quantités, des dès de quelques centimètres de côté sont suffisants.

Par contre, et cela est vrai pour tous les prélèvements, il convient de les placer au froid : entourés de glace dans des bocaux hermétiques stériles (bocaux de conserve) et une boîte isotherme en polystyrène, ou congelés.

Il convient de ne jamais introduire de fixateur (type BOUIN).

Quel que soit le moyen choisi, il faut faire parvenir le prélèvement dans les meilleurs délais au laboratoire.

c) Etapas de l'isolement et de l'identification de *Pseudomonas pseudomallei* (d'après GALIMAND)



d) Isolement

Echantillon : le fragment d'organe est finement dilacéré, un à deux grammes de terre ou de crottins sont placés dans 10 ml d'eau physiologique stérile. Après agitation (au vortex), on laisse décanter ou l'on centrifuge (10' à 500/600 tours/minute). On prélève 1 à 2 ml du surnageant que l'on place dans le milieu d'enrichissement.

e) Identification

- Sur le milieu Mevag : on met en évidence une oxydase. Les cultures dégagent en 48 heures une odeur de truffe caractéristique.
- L'examen microscopique direct met en évidence :
 - La mobilité à l'état frais
 - La présence de flagelles par coloration à base d'acide tannique, de chlorure de sodium et de fushine basique.
- Le milieu de Christensen permet la mise en évidence d'un uréase.
- On peut faire appel aux caractères biochimiques : utilisation du lactose, acidification du lait tournesolé...
- Inoculation : éventuellement mise en oeuvre. Désormais peu employée, elle consiste à inclure tels quels les produits pathologiques sous la peau incisée ou à les injecter, dilués, en intrapéritonéale. L'animal reçoit concomitamment un traitement antibiotique inactif sur le bacille de Whitmore.

Les deux grandes voies d'identification sont :

- l'agglutination sur lame
- l'immunofluorescence.

Agglutination sur lame. On réalise une suspension en eau physiologique de la souche à identifier. Sur une lame on dépose 3 gouttes de cette suspension.

- Goutte 1 : Témoin en cas d'auto-agglutination
- Goutte 2 : On ajoute une goutte de sérum de lapin non immunisé
Témoin agglutination non spécifique.

- Goutte 3 : On ajoute une goutte de sérum de lapin anti-Pseudomonas pseudomallei
La présence de Pseudomonas pseudomallei entraîne une agglutination granulaire de type somatique qui apparaît en quelques secondes.

Immunofluorescence indirecte :

- Suspension bactérienne en eau physiologique
- Fixation de l'acétone, 15 mn
- Sérum anti-bacille de Whitmore spécifique dilué au 1/40e 30 mn à 37°C
- Lavage en eau physiologique tamponnée, 10 mn
- Conjugué fluorescent anti-immunoglobuline de lapin dilué au 1/80e, 30 mn à 37°C
- Deuxième lavage
- Solution bleu d'Evans ($1/10^4$), 20 mn à 37°C
- Rincage en eau physiologique tamponnée, 5 mn
- Montage en glycérine tamponnée

Le témoin négatif : procéder de la même façon en remplaçant le sérum anti-bacille de Whitmore spécifique par un sérum de lapin non immunisé.

La présence de Pseudomonas pseudomallei se manifeste par l'apparition de germes fluorescents sur leur pourtour.

2/ Diagnostic sérologique

a) Les méthodes utilisables

Fixation du complément : Méthode utilisée dans le passé, elle est pratiquement abandonnée aujourd'hui car peu spécifique.

Immunofluorescence : L'immunofluorescence indirecte, très sensible et spécifique, ne peut être appliquée au niveau d'une enquête épidémiologique. Son intérêt est encore du domaine expérimental, bien que des résultats positifs aient été enregistrés chez l'homme.

Réaction d'hémagglutination conditionnée : Constitue la méthode la plus fidèle à condition d'obtenir un antigène spécifique.

Réaction de double diffusion en gélose : Cette méthode, peu employée, est intéressante si on utilise la fraction antigénique W_{1+2} spécifique du type I.

b) La méthode utilisée : Réaction d'agglutination.

Protocole : L'antigène utilisé est une souche humaine isolée à Saïgon : la souche 60/68.

La suspension est chauffée pendant deux heures à 100°C. On utilise une série de tubes à hémolyse sur lesquels est indiquée la dilution finale : 1/40e 1/80e 1/160e 1/320e 1/640e 1/1280e. Dans chaque tube on met 0,5 ml d'eau physiologique. Dans un tube 1/40e, on ajoute 0,5 ml de sérum dilué au 1/10e de sorte que la dilution obtenue est de 1/20e. On agite. On prélève 0,5 ml de ce tube que l'on verse dans le tube 1/80e et ainsi de suite de proche en proche.

On obtient donc des dilutions 1/20e 1/40e 1/80e 1/160e 1/320e 1/640e. On ajoute ensuite 0,5 ml de la suspension antigénique : les dilutions finales sont donc celles indiquées sur les tubes : 1/40e 1/80e 1/160e 1/320e 1/640e. On agite.

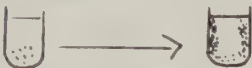
Les tubes sont placés trois heures à l'étuve à 37°C puis laissés dix huit heures à la température du laboratoire. La lecture se fait par agitation du tube, à l'aide d'une loupe et par transparence.

Dans le cas d'une réaction négative :



On observe un léger dépôt au fond du tube. Par agitation le précipité s'élève en "fumée de cigarette".

Dans le cas d'une réaction positive :



On observe après agitation, un agglutinat persistant environ quinze minutes.

Le titre est donné par le dernier tube positif, c'est à dire la dilution la plus élevée.

Le prélèvement : Il convient de prélever le sang sur tube sec, d'éviter l'hémolyse par une agitation trop importante. Le prélèvement maintenu au froid doit être expédié au laboratoire dans les meilleurs délais.

Limites de la technique : Au cours d'une manipulation, la variation d'un antigène peut donner des résultats globalement différents. L'erreur ainsi induite est en pratique limitée au maximum à une dilution.

Le titre n'a qu'une valeur approximative : par exemple, le titre de $1/640e$ sera attribué à deux sérums, l'un agglutinant en réalité par exemple à $1/650e$ et l'autre à $1/1270e$. Le résultat sera donné par défaut.

Des réactions faussement positives peuvent être dues (de même qu'avec d'autres techniques) à l'état R "rough" et à la communauté antigénique avec d'autres bactéries habituelles ou accidentelles (Salmonelles - Richettsies).

3/Diagnostic allergique

a) Historique

Différents auteurs ont essayé de mettre au point un diagnostic allergique de la maladie basé sur la sensibilité cutanée : LEGROUX préconisait l'emploi d'un extrait de culture en bouillon glyciné.

FOURNIER & CHAMBERON utilisèrent un antigène O purifié.

LEWIS & OLD ont expérimenté différents types de mélioïdines :

- Dilution Growth Medium (DBM) : bons résultats.
- Concentrated Growth Medium (CBM) : rapidement délaissée car trop peu spécifique.
- Synthétique Bédium Medium (SBM) : semble assez sûre.

Ces divers produits ont deux inconvénients limitant leur

emploi :

- Toxicité entraînant une nécrose cutanée importante.
- Ils ne décèlent la maladie qu'à un stade tardif, ils ne sont donc utilisables que dans les formes chroniques.

b) L'antigène employé

L'Institut PASTEUR a mis au point un extrait antigénique W_{1+2} extrait de culture de *Pseudomonas pseudomallei*, non toxique, non démonécrosant. Sa conservation s'effectue entre $+2^{\circ}$ et $+6^{\circ}C$, à l'abri de la lumière.

c) Protocole

On pratique une intradermoréaction par injection de 0,1 ml de Whitmorine (=100 microgrammes de la fraction W_{1+2}) au niveau de l'encolure, sur une zone préalablement tondu et désinfectée.

En pratique nous avons utilisé un dermo-jet.

d) Caractères de la réaction

La réaction est exclusivement locale. Son maximum se produit entre la 24^{ème} heure et la 36^{ème} heure qui suivent l'injection. En pratique, si l'injection est pratiquée le matin, on dispose de la journée du lendemain pour effectuer la lecture.

Sur les animaux sains on ne doit pas trouver l'apparence d'un léger oedème.

Sur les sujets "méléoïdiques" il se produit un oedème important, décelable à l'oeil, confirmé par le toucher.

III - CONDUITE DE L'ENQUETE

1/ Les problèmes rencontrés

Ils tiennent pour une part aux déplacements qu'effectuent les chevaux : services ou postes en province, stages dans d'autres unités, concours. De ce fait et du fait des réformes, il est souvent difficile de suivre avec précision un échantillon donné.

Par ailleurs, du fait des impératifs esthétiques inhérents aux services, il est évident que des mesures telles que la tonte d'une portion de l'encolure pour le test allergique, n'ont pu être prises que dans des limites d'effectifs et dans des périodes bien précises.

2/ Choix d'échantillons

Etant donné l'importance numérique de l'effectif et compte-tenu des problèmes rencontrés, nous avons, dans un premier temps, effectué une étude, à l'aide des différents moyens diagnostiques utilisés, du plus grand nombre de chevaux possible, puis nous avons choisi des groupes de sujets en fonction de leur intérêt épidémiologique et des premiers résultats, que nous avons suivis plus précisément sur plus d'un an.

A Vincennes :

- Dans le 2^{ème} Escadron, une étude sérologique a été faite parallèlement au test allergique sur la soixantaine de chevaux de l'effectif. Puis une dizaine de chevaux ont été suivis très précisément ce qui a permis d'étudier un deuxième test allergique à quelques mois d'intervalle, de faire une cinétique d'anticorps, d'effectuer des recherches coprologiques.

- Dans le 3^{ème} Escadron, l'étude sérologique a été faite seule sur l'effectif d'environ une cinquantaine d'individus. Une cinétique des anticorps a été effectuée sur une trentaine d'entre eux, dont une dizaine ont été suivis très régulièrement tout au long de l'enquête. Un test allergique, suivi d'une étude sérologique et parallèlement d'une recherche coprologique ont été menés sur une trentaine de chevaux. Un lot de chevaux "témoins" d'une dizaine d'individus n'ayant pas reçu de Whitmorine ont été suivis sérologiquement.

Aux Célestins :

Après une sérologie effectuée sur une soixantaine de chevaux notre attention s'est portée sur l'écurie du CSO (Concours de Sauts d'Obstacles), après l'affectation de jeunes chevaux, son effectif s'élève à vingt trois individus. Ils ont été suivis en détail, à l'aide des trois moyens diagnostiques.

A l'Ecole Militaire :

Notre étude a surtout porté sur des chevaux dont des examens antérieurs avaient révélé la présence de germes dans les fèces.

Chapitre III

RÉSULTATS

I - SÉROLOGIE DES JEUNES CHEVAUX

Durant l'année 1979, un test sérologique concernant la mélioiïdose a été effectué sur les chevaux au moment de leur visite d'incorporation. Il s'agit de sujets de trois ans. La majorité des chevaux pour des raisons pratiques, n'ont subi qu'un contrôle sérologique au moment de l'incorporation. Pour ceux qui ont été suivis plus régulièrement, seul figure ici le résultat à l'incorporation.

Ces résultats sont présentés de façon synthétique dans le tableau 1

La sérologie de cette population semble se distribuer, globalement de façon homogène, avec un maximum de fréquence au 1/600.

Si on analyse les résultats en fonction de la région d'origine on obtient le tableau 2. Cela permet de penser, qu'en ce qui concerne le lot étudié, la région d'origine et de façon même plus précise, l'élevage d'origine, semble influencer sur le niveau de la sérologie.

II - CHEVAUX N'AYANT SUBI QU'UN CONTRÔLE SÉROLOGIQUE

1/Chevaux du 2ème Escadron - Vincennes (tableau 3)

Les chevaux de cette unité ont subi simultanément le 23 Février un contrôle sérologique et un test allergique. Seuls sont répertoriés dans le tableau 3 les résultats concernant les chevaux n'ayant pas été suivis précisément par la suite.

Sur cet échantillon, pris au hasard, aucune réaction allergique positive n'a pu être notée. Il semble, à priori, d'après ces premiers résultats, qu'il n'y ait pas un rapport direct entre sérologie et réaction au test allergique.

2/Chevaux du 3ème Escadron - Vincennes (tableau 3)

Les chevaux de cette unité ont subi un contrôle sérologique le 24 Mars. On présente dans le tableau 3 les résultats concernant les chevaux qui n'ont pas été contrôlés par la suite et de quelques sujets qui serviront de témoins, ne subissant pas de test allergique.

On constate que les sérologies, pour chaque population, se distribuent harmonieusement autour de valeur moyenne. Il semble cependant que le niveau du 2ème Escadron soit supérieur à celui du 3ème Escadron, les deux populations vivent dans le même quartier de cavalerie, dans des écuries juxtaposées, ont les mêmes conditions de vie.

Ce léger décalage des sérologies peut être rapporté :

- Soit à une marge d'erreur propre au test,
- Soit au fait que le niveau sérologique serait plus ou moins

propre à une écurie donnée, à une population vivant dans un milieu particulier précis.

3/Sérologie de chevaux ayant subi le test allergique depuis plusieurs mois (tableau 4)

Deux populations des Célestins ayant subi un test allergique négatif au mois de Janvier, ont été contrôlées sérologiquement l'une en Avril, l'autre en Août. Les résultats sont résumés dans le tableau 4, la distribution des sérologies semble comparable, on peut donc penser que le test allergique n'entraîne pas de modification à long terme de la sérologie entre trois mois et sept mois après.

Le niveau moyen de ces sérologies est néanmoins légèrement supérieur à ceux étudiés précédemment : on peut rattacher cela soit à une influence lointaine du test allergique, soit plus vraisemblablement, au fait que ces derniers chevaux étaient affectés dans un quartier différent.

III - EVOLUTION DES ANTICORPS SUR DEUX EFFECTIFS

1/Chevaux du 2ème Escadron - Vincennes (tableau 5)

Une partie des chevaux du 2ème Escadron de Vincennes ayant subi un test allergique négatif le 23 Février ont été suivis épisodiquement sur le plan sérologique.

Résumée dans le tableau 5 à la date du 23 Février, il apparaît une distribution très comparable, sur cet échantillon pris au hasard, à celle de l'ensemble de l'effectif du 2ème Escadron (cf. tableau 8) d'où confirmation de l'harmonie sérologique d'un même effectif.

2/Chevaux du 3ème Escadron - Vincennes (cf. tableaux 5 & 6)

Une remarque du même type peut être faite au sujet de ce groupe (cf. tableaux 5 & 8).

Si on fait apparaître dans un tableau les variations de sérologie des chevaux ayant eu le test entre Février et Mai et celle des chevaux exempts de test entre Mars et Mai (cf. tableau 6) il apparaît à l'évidence que ce test n'entraîne pas une modification de la sérologie, du moins au bout d'une période de deux à trois mois. On peut préciser que globalement, sur une période d'un an, il y a élévation globale des sérologies. Cela méritera d'être précisé sur un plus grand nombre de sujets.

IV - TEMOINS

Les chevaux "témoins", sont des chevaux n'ayant pas subi de test allergique, dont on connaît une certain nombre de sérologies réparties sur un an ou plus. (cf. fiche A). Leur intérêt est de donner "le bruit de fond" de l'évolution sérologique. Il semble indiquer une augmentation assez nette de la sérologie globalement sur une période d'un an.

V - ETUDE : CINETIQUE DES ANTICORPS-TEST ALLERGIQUE-COPROLOGIE VINCENTES (fiches B & C)

Une trentaine de chevaux du 2ème et du 3ème Escadron ont été suivis plus précisément sur le plan sérologique, coprologique et ont subi un ou deux tests allergiques. Les résultats figurent dans les fiches.

- Sur le plan bactériologique : on n'a pas pu mettre le germe en évidence ni dans les crottins ni dans les prélèvements de sol ou de fumier effectués dans l'enceinte du quartier. (cf. tableau 7).

- Sur le plan sérologique : on note globalement une élévation notable de la sérologie au sein de la population sur une période d'un an.

Une influence du test allergique : il semble entraîner une augmentation de la sérologie, qui apparaît lorsqu'elle est suivie tous les dix jours environ, le premier mois. Les rapports test allergique/sérologie seront étudiés plus en détail dans les commentaires.

- Sur le plan allergique : on a pu noter trois résultats positifs qui se sont négativés au bout de huit mois.

VI - ETUDE : CINETIQUE DES ANTICORPS-TEST ALLERGIQUE-COPROLOGIE CELESTINS (fiches D & D')

Fiche D - Fiche D' : Jeunes chevaux affectés en 1979 au CSO

- Bactériologiquement : Le germe a été mis en évidence à plusieurs reprises dans les crottins. Le germe n'a pas été retrouvé sur des prélèvements effectués dans le quartier de cavalerie le 27 Novembre 1979 portant sur le sol du manège, de la carrière et de différents tas de fumiers. On peut noter que la recherche coprologique ne s'est pas avérée positive deux fois chez le même cheval, par contre, le germe a été identifié trois fois de façon formelle et très probablement cinq fois, sur des chevaux différents, par immunofluorescence.

- Sérologiquement : Le niveau est globalement élevé, dès le début 1979, nettement supérieur au niveau constaté sur les autres chevaux (cf. tableau 8). En particulier, les jeunes chevaux ont vu leur sérologie augmenter.

- Le test allergique : N'a pas donné de résultat positif.

La sérologie assez élevée, la présence du germe, donnent à cet effectif une importance particulière. Cliniquement le cheval Happy-Times a été suspecté de manifester une forme subaiguë de mélioïdose en Janvier 1979.

VII - ETUDE SEROLOGIQUE - COPROLOGIQUE MENEES DANS L'EFFECTIF DE L'ECOLE MILITAIRE (fiche E)

Le contrôle coprologique s'est avéré positif sur un certain nombre de chevaux. On peut noter que le germe, bien que mis en évidence à différentes périodes, n'a pas été isolé deux fois chez le même cheval.

Parallèlement, le germe a été mis en évidence dans le manège de l'Ecole Militaire à la suite de prélèvements effectués dans deux coins du manège, le 10 Octobre 1978. A la suite des mesures de désinfection mises en oeuvre, les prélèvements se sont montrés négatifs à partir du 23 Octobre 1978.

Tableau 1 : Sérologie des jeunes chevaux à l'incorporation

Sérologie	Négatif	80	160	320	640	1280
13/2/79				2	1	2
19/4/79		1	5	1		
31/5/79		6	14	4	1	
6/3/79				1		
18/8/79			1			
Total		7	20	8	2	2

Tableau 2 : Sérologie des jeunes chevaux en fonction de leurs origines

Sérologie	Négatif	80	160	320	640	1280
Département d'origine						
50		4	9	4		
14		2	4			
85		1		1	1	1
44				1	1	
71			2			
05				1		
16						1
58			1			

Tableau 3 : Sérologie de chevaux n'ayant subi qu'un seul rôle
sérologique

Sérologie	N	80	160	320	640	1280
20/2 Chevaux du 2 ^{ème} Escadron test allergique		1	10	2	1	1
21/3 Chevaux du 3 ^{ème} Escadron	6	12	6	2	1	

Tableau 4 : Sérologie de chevaux ayant subi le test allergique négatif
depuis plusieurs mois

Sérologie	N	80	160	320	640	1280
Sérologie le 26/4 ayant subi le test aller- gique le 1/2		1	3	5	6	
Sérologie le 13/8 ayant subi le test aller- gique le 1/2		1	4	4	6	

Tableau 5 : Sérologie de lots de chevaux de Vincennes suivis épisodiquement sur le plan sérologique.

Sérologie	N	50	100	200	500	1280
Sérologie le 20/2 de chevaux ayant subi un test allergique négatif ce jour	1	4	5	6		
Sérologie le 21/5 de chevaux du 3ème Escadron		7	7	2		

Tableau 6 : Evolution de la sérologie - Influence du test allergique.

Evolution de la Sérologie	Diminution de 2 dilutions	Diminution de 1 dilution	Sérologie constante	Augmentation de 1 dilution	Augmentation de 2 dilutions
Chevaux du 3ème Escadron (n'ayant pas subi de test allergique) Evolution de Mars à Mai			4	2	4
Chevaux du 2ème Escadron (ayant subi un test allergique négatif en Février) Evolution de Février à Mai	1	1	3	3	1

Tableau 2 : Influence sur la sérologie des vaccinations associées au test allergique.

	Diminution de 3 dilutions	Diminution de 2 dilutions	Diminution de 1 dilution	Sérologie constante	Augmentation de une dilutions	Augmentation de deux dilutions	Augmentation de trois dilutions	Augmentation de quatre dilutions
Chevaux du 2e Escadron								
variation de la sérologie du 23/2au22/3 (ayant subi test allergique + vaccinations le 23/2)	1	1	2	5	2			
Chevaux du 3e Escadron								
variation de la sérologie du 12/10au13/10 (ayant subi test allergique le 12/10)				4	8	1	1	2

Tableau 11 : Influence d'un deuxième test allergique sur la sérologie

Chevaux du 2e Escadron cf. fiche C	N	80	160	320	640	1280
Sérologie le 12/10 + 2ème test allergique	0	0	3	1	4	2
Sérologie le 24/10	0	0	0	0	4	5
Sérologie le 31/10	0	0	0	3	3	2
Sérologie le 13/11	0	0	0	5	2	2

Tableau 10 : Influence du test allergique sur la sérologie

Chevaux du 2 ^{ème} Escadron cf. fiche C	N	80	160	320	640	1280
Sérologie du 25/2 + test allergique	0	0	1	7	0	0
Sérologie du 12/2	1	1	5	3	1	0

Chevaux du 3 ^{ème} Escadron cf. fiche D	N	80	160	320	640	1280
Sérologie du 12/10 + test allergique	1	2	4	6	4	2
Sérologie du 24/10	0	0	2	7	4	2
Sérologie du 31/10	0	0	0	5	0	6
Sérologie du 13/11	0	0	1	3	0	4

Jeunes chevaux C S O	N	80	160	320	640	1280
Sérologie le 12/10 + test allergique	0	0	3	1	4	2
Sérologie le 24/10	0	0	0	0	4	5
Sérologie le 31/10	0	0	0	3	3	2
Sérologie le 13/11	0	0	0	5	2	2

Figure 1 : Sérologie des chevaux léopards

	24/2/73	5/2/73	19/6/73	19/3/79	19/4/79	12/5	25/7	13/8	10/1	14/2	26/2
Canillo II			320	320	640	1280	320				1280
Capucine			60						640		
Roidupot			160						640	1280	
Doulangier			"						640	1280	
Beauchichel			60						640		
Francipane	320	320	160						1280		
Alleluia			60		320	320					
Joliveneur		640							320	640	
Dantoine		320	60						640		
Edit du meunil			60		160					320	

Tableau 7 : Recherche bactériologique du germe dans fumiers et sols - Vincennes

Le 2/6/73		Le 12/11/73	
Lieux	Résultats	Lieux	Résultats
Carrière Nord	-	Manjès	-
Carrière Sud	-	Carrières	-
Riste Nord	-	Clare	-
Riste Sud	-	Fumier Général	-
Manège Nord	-		
Manège Sud	-		

FICHE B - CINETIQUE DES ANTICORPS - TEST ALLERGIQUE - COPROLOGIE - 3ème ESCADRON - VINCENNES

	22/3/79	19/4	28/5	25/7	18/9	12/10	24/10	31/10	13/11	30/120	4/2
Balto	320	640			320	1280	-	1280	280	-	
Eurydice	640	160	160		160	160	320	640	320	-	
Dauphin B	80	80		160	320	N	320	320	640	-	320
Capucin	160	160	640	160		320	320	1280	640	320	320
Farceur	160	80	640			640	640	640	640	-	1280
Hodarderie	640	160			320	640	640	640	-	640	640
Grêle	320	160		320		640	-	640	1280	-	
Aux Couleurs	640	160	640	320	320	80	640	640	1280	640	1280
Figaro	80	320				320	320	320	640	-	640
Vains	80					160	640	640	320	320	640
Cybelle	N					320	320	1280	320	320	
Tabor Royal	80					160	320	320	1280	640	
Regina	320					1280	1280	1280	-		
Floréal	160					320	1280	640	640	-	
Quarré II	N					160	160	320	640	1280	640
Taciturne						640	160	1280	640	-	
Riboulding						320	-	640	640	1280	1280
Un Oubli						80	-	320	160	320	1280
Hypsos						320	320	1280			640

↑ Allergie ↑ Coprologie

FICHE C - CINETIQUE DES ANTICORPS - TEST ALLERGIQUE - COPROLOGIE - 2ème ESCADRON - VINCENNES

	23/2/79	22/3	19/4	15/5	29/7	18/9	12/10	24/10	31/10	13/11	16/1/80	14/2
De Saulseuse	160 -	160				320	640 -		320	320 -		
Hixe	N -						160 -	640	320	640 -	640	320
Kamikase	320 -	320	320		320	320	640 -	1280	1280	320 -		1280
Cousin de Sisse	160 -	160	80	160	320	160	320 -	640	640	640 -		320
Dandina	160++	320	640	320	640	640	640 -	1280		320 -	320	1280
Vair I	320 -	160				320	640 -	1280		1280 -	1280	
Alikante	320 -						1280 -	1280	640	320 -	640	1280
Eh Milord	320++	N			160		160 -	640	320	320 -		640
Héros Maraichin	320 -	80	80	640	160	320	160 -	640	640	1280 -		
Beldad du Mesnil	320++	640			1280		1280 -	1280	1280	-		
Corsaire	320 -	160	80	80		640	320 -					640

↑
Allergie

↑
Allergie

↑
Coprologie

FICHE D - CINETIQUE DES ANTICORPS - TEST ALLERGIQUE - COPROLOGIE - C S O - CELESTINS

[illegible]

	6/3/79	31/5	26/7	13/8	7/9	24/10	8/11	27/11	12/2/80	26/2
Kerloi	320	160	160	160	160	320 -	640	640 -	320 -	320 +
Kipt d'elle	160	80	160	160	160	320 -	320	640 -		
Kald des Prés	160	80	160	320	320	640 -	1280	640 -	320 -	320 -
Kloppo	160	160	160	160	320	160 -	160	640 -	320 -	640 -
Kepi Rouge	160	160	160	160	320	320 -	320	1280 -	160 -	640 -
Katia du Vey	320	320	320	320	320	640 -	1280	-	1280++	640 -
King Nantais	640	640	320	640	640	640 -	640	1280 -	640 -	640 -
Kepi Besneville		160	320	320	320	320 -	320	640 -	320 -	320 -

↑
Allergie

↖ ↗
Coprologie

TABLEAU 8 - DISTRIBUTION DES SEROLOGIES DES DIFFERENTS EFFECTIFS

	N	80	160	320	640	1280
2/2/79 - Nombre de chevaux du C.S.O.	0	0	1	3	6	5
23/2/79 - Nombre de chevaux du 2ème Escadron - Vincennes	1	5	29	21	1	1
22/3/79 - Nombre de chevaux du 3ème Escadron - Vincennes	5	22	13	7	4	0

Fiche E : Sérologie - Coprologie - Chevaux de l'Ecole Militaire

	9/4 78	7/2	5/6	15/6	19/6	21/6	19/9	27/9	10/10	25/10	Janin 79	19/1 80	10/2 80
Frimas					+							320	640
Elegant											+	320	520
Quirioso	-								+	-		640	640
Fidélité	-								+			1280	640
Unic du Marais	-								+			640	640
Dandy													
Charrière	-	-					+	-	-	-		640	640
Rioverde	-	-	80	80		320	-		+	-		150	320
Roitro	-		160			620			+	+			

Chapitre IV

DISCUSSION - COMMENTAIRES - SUGGESTIONS

Dans cette dernière partie, les commentaires permis par les résultats précédents vont être abordés en fonction des éléments diagnostiques mis en oeuvre.

I - LA MISE EN EVIDENCE DIRECTE DU GERME : BACTERIOLOGIE

1/Mise en évidence au niveau du sol

Les prélèvements effectués dans les quartiers de cavalerie de la Garde Républicaine de Paris se sont tous avérés négatifs.

Par contre, le germe a été mis en évidence, le 10 Octobre 1978 dans le manège de l'Ecole Militaire; à la suite des mesures de désinfection mises en oeuvre, les prélèvements sont devenus négatifs le 23 Octobre 1978 (cf. fiche E).

Cette disparition rapide du germe montre l'efficacité des mesures de désinfection; on peut préciser que si ces mesures se sont montrées si efficaces c'est dû, en partie, au fait qu'il s'agit d'un sol "artificiel" et que par conséquent, l'épaisseur à désinfecter est faible comparativement à un sol naturel. De telles mesures n'auraient certainement pas été aussi concluantes, ou même se seraient avérées vaines, sur un champ. Par ailleurs, les quantités de désinfectant employées ont été considérables et la mise en oeuvre très minutieuse.

On peut aussi constater que les mises en évidence du germe dans les crottins ont eu lieu dans la même période; après la désinfection, le germe n'a été mis qu'une fois en évidence.

Le strict parallèle dans le temps entre la mise en évidence dans le sol et dans les crottins, suggère que les chevaux, dans les crottins desquels on a trouvé le germe, n'aient fait que transiter le germe par leur tube digestif en suivant le processus : sol du manège
sabots souillure des aliments tube digestif crottins.

En conclusion, la recherche du germe dans le sol présente un intérêt épidémiologique incontestable : elle permet de détecter les zones infectées, de tracer une carte toujours plus détaillée de la localisation du germe et de mettre en oeuvre des mesures de désinfection adaptées.

Un certain nombre de règles doivent être respectées en ce qui concerne les prélèvements :

- choisir les lieux où l'on a le plus de chance de trouver le germe, préférer les bourniers, les bords des mares, l'entrée des manèges, les bords des flaques, les endroits de passages fréquents des chevaux ou endroits sablonneux, secs, peu piétinés.

- Effectuer les prélèvements en surface et en profondeur, en particulier pour confirmer l'efficacité d'une désinfection.

- Les échantillons prélevés à l'aide d'un instrument (type truelle), désinfectés à l'eau de javel entre deux prélèvements, sont placés dans une boîte propre, envoyés vers le laboratoire dans les meilleurs délais et les meilleures conditions. (cf. 2ème partie chapitre II)

La méthode extrêmement sûre, du fait de la spécificité de la réaction d'immunofluorescence mise en oeuvre pour détecter la présence du germe, demeure une méthode par défaut, du fait que, dans l'espace, comme dans le temps, les échantillons étudiés sont ponctuels.

2/Mise en évidence du germe dans les crottins

Dans les différentes populations étudiées, le germe n'a jamais été mis en évidence deux fois chez le même cheval.

La remarque du chapitre précédent, notant qu'il s'agit d'une méthode par défaut, s'applique à la méthode de recherche du germe dans les crottins et peut donc en partie, expliquer qu'on n'ait pas retrouvé deux fois le germe dans les crottins du même cheval.

Cependant, il est à noter qu'en ce qui concerne la Garde Républicaine de Paris, le germe a toujours été mis en évidence dans les crottins de chevaux de la même écurie, celle du CSO. Au sein de cette écurie, le germe a été excrété, à des périodes différentes, par des chevaux différents.

Il semble que la notion, plus précise, d'écurie infectée avec élimination "épisodique" du germe, existe et soit un élément en faveur de l'hypothèse du simple portage-élimination du germe par les chevaux de cette écurie.

Rapport coprologie-sérologie :

Une discordance nette apparaît entre sérologie et coprologie.

- Un cheval positif en coprologie (Gracieux Mioche - CSO) ou douteux (Kerloi) se maintient à un taux relativement modéré, par rapport au reste de l'effectif (320e) ce qui semblerait bien indiquer qu'il y a simplement portage du germe sans contact intime germe-cheval, d'où l'absence de sérologie significative. (cf. fiches D & D')

- Par contre, un cheval positif en coprologie (Katia du Vey) manifeste une sérologie élevée, tout en présentant par ailleurs un état général et des performances sportives très correctes. (cf. fiche D).

- Pour des chevaux, dans les crottins desquels le germe n'a jamais été isolé, le niveau sérologique et la cinétique peuvent prendre des aspects très variés.

- En ce qui concerne les chevaux de l'Ecole Militaire, on peut conclure qu'à long terme cette discordance persiste : des chevaux ayant présenté du Pseudomonas pseudomallei dans leurs crottins, plus d'un an auparavant, peuvent avoir une sérologie haute (Fidelio) ou basse (160e - Rioverde). (cf. fiche E).

Cette étude ne permet pas de tirer de conclusion formelle; on en est réduit aux hypothèses, dont une des plus probables consiste dans le simple transit digestif du germe, par le cheval excréteur épisodique.

Les variations sérologiques étant fonction, aux autres facteurs de variation près, du contact plus ou moins intime germe-organisme.

Cependant, la recherche du germe dans les crottins permet sur

le plan épidémiologique de localiser les écuries infectées, par conséquent de prendre les mesures prophylactiques adéquates et d'être vigilant à d'éventuelles manifestations cliniques chez des sujets débilisés.

3/Mise en évidence du germe dans les organes.

Dans le cadre de l'effectif de la Garde R'publicaine de Paris, la recherche du germe dans les organes n'a été mise en oeuvre qu'à une seule occasion.

- Le cheval Généralife, à la suite d'une perforation plantaire d'environ 3,5 cm, due à un clou de rue en pointe de fourchette, du postérieur droit, a présenté en Novembre 1977 des signes de septicémie. Le traitement local et général (sérum anti-gangréneux, antibiotiques, anatoxine tétanique, réhydratation parentérale, antidouleurs) n'ont pu empêcher l'évolution vers la fonte musculaire, avec inappétence, signes d'atteinte hépatique, hyperthermie puis hypothermie. Malgré le traitement, l'état s'aggravant, l'abattage a été décidé, sept jours après l'accident.

- Les prélèvements effectués furent : sang cardiaque, liquide péricardique, membre postérieur droit sectionné sous le jarret.

- La sérologie était de 1/160e

- Les résultats bactériologiques :

- Liquide péricardique : négatif
- Membre : négatif
- Hémoculture : positive

- Sur cet exemple précis, il semble douteux de conclure que le bacille de Whitmore est le responsable étant donné les manifestations cliniques d'infection généralisée que l'on peut observer classiquement à la suite d'une perforation plantaire chez le cheval. La présence et la diffusion du germe peuvent être éventuellement rattachées aux diminutions de résistance du cheval.

- La seule preuve à posteriori, formelle de mélioïdose, consiste dans la mise en évidence du germe dans les organes du cadavre. Elle constitue le seul diagnostic de certitude de mélioïdose, bien qu'étant donné l'importance des facteurs de réceptivité, le germe puisse être bien toléré chez des porteurs sains. Il conviendrait donc que cette mise en évidence soit associée à d'autres signes diagnostiques.

En conclusion, la bactériologie, méthode expérimentale très spécifique constitue pour le clinicien et l'épidémiologiste un élément de diagnostic indispensable.

II - LA SEROLOGIE DE LA MELIOIDOSE

La sérologie de la mélioïdose est l'objet de beaucoup de controverses du fait des difficultés rencontrées dans son interprétation.

1/Notion de "seuil de positivité"

Bien qu'il soit satisfaisant d'essayer de fixer un taux minimum significatif, cela semble utopique : certains le fixent à 1/100, d'autres à 1/80, BLANC & SIGNIER considèrent 1/2500 à 1/3000 comme des titres moyens. COUTURE estime que la séroagglutination a peu de valeur, de plus, à priori, ce taux peut être différent suivant l'espèce.

Par conséquent, il convient d'être prudent : d'abord de préciser qu'un taux "élevé" ne signifie pas qu'il y ait infection, mais simplement qu'il y a eu contact avec le germe.

L'expérience semble prouver qu'il faille un taux de 1/160e ou même de 1/320e pour parler de "contact" avec le germe.

2/Niveau global d'une population

Cette étude semble prouver que, pour une population donnée, il y a une distribution harmonieuse des sérologies autour d'une valeur de fréquence maximale (suivant une courbe à allure de Gauss).

Ce niveau global semble pouvoir être rattaché à la fréquence des contacts qu'il y a eu entre le germe et les individus.

- Par exemple, la sérologie du CSO (Concours de Sauts d'Obstacles) était globalement supérieure à celle des autres chevaux (cf. tableau 8) ce qui est à rapprocher du fait :

- que par leurs déplacements ils ont plus de risques de contact avec le germe.
- que c'est dans cette écurie que le germe a été isolé des crottins à plusieurs reprises.

- De même, le niveau global du 2ème Escadron semble supérieur à celui du 3ème Escadron, bien que les deux effectifs soient dans le même quartier. (cf. tableau 8).

La notion plus précise de niveau de l'écurie semble donc à retenir.

3/Cinétique

Comme toute sérologie, celle de la mélioïdose a de valeur surtout en ce qui concerne sa cinétique. Il convient de préciser que les anticorps sont éliminés rapidement (environ 35 jours chez un mouton inoculé par voie intraconjonctivale).

Une sérologie doit être interprétée, au minimum, à la lumière de deux prélèvements à quinze jours d'intervalle.

- Une courbe ascendante permet de penser à une maladie en évolution.
- Un taux constant ou en diminution permet d'éliminer une atteinte évolutive.
- Un taux persistant plus de trois mois, avec des oscillations, ce qui est le cas chez de nombreux chevaux suivis au cours de l'étude, semble correspondre à une infestation du milieu et à des réinfestations permanentes.

4/Rapport sérologie/clinique

En Janvier 1979, un cheval du CSO, Happy-Times, a présenté des signes d'asthénie, d'amaigrissement, d'anorexie dont les prodromes avaient été constitués de fatigabilité et par conséquent de diminution des performances sportives. A ce syndrome clinique, sans signe pathognomonique, d'installation progressive, se sont ajoutés deux éléments diagnostiques :

- coprologie positive le 30 Janvier
- sérologie très haute : 1280e

Cet ensemble d'éléments a orienté vers un diagnostic de forme subaiguë de mélioïdose. Un traitement spécifique à base de chloramphénicol, et symptomatique à visée hépatique, a permis une amélioration progressive de l'état du cheval, qui a repris depuis une activité sportive normale.

La coprologie s'est avérée négative depuis cet épisode.

L'évolution sérologique est donnée par la fiche D.

La sérologie, située à un niveau très élevé au moment de l'épisode subaiguë s'est peu à peu abaissée au fil des mois, puis semble être remontée.

Cette remarque peut être rapprochée de l'observation faite en médecine humaine : à la suite de traitement sur des sujets à sérologie traînante et hémoculture positive, il a été noté une augmentation du taux sérologique à la suite du traitement puis une "négativation" en soixante jours environ.

On a vu qu'un taux sérologique important ne signifie pas qu'il y ait infection, à fortiori, ne signifie pas qu'il y ait de manifestation clinique.

Dans notre étude, Happy-Times, seul cas qui semble devoir être rattaché à la mélioïdose, présentait un taux élevé au moment de l'épisode clinique, ce qui pourrait s'expliquer du fait qu'il s'agissait d'une forme évoluant à bas bruit depuis quelque temps.

Par contre, d'autres études (BOURRIER)¹³ ont montré des cas avec signes cliniques et une sérologie basse.

L'évolution sérologique à la suite d'un épisode clinique a été étudié par DESBROSSE : pendant le trimestre suivant un accès clinique, il a noté quatorze chevaux évoluant d'une réponse négative à une réponse franchement positive, et dix, d'une réponse positive à une réponse négative.

5/Facteurs influents sur la sérologie

a) Test allergique. De par sa nature, influe sur la sérologie. Cette influence sera étudiée plus en détail dans le paragraphe III

b) Vaccinations (tableau 9) Lors du premier test allergique effectué sur l'effectif du 2ème Escadron (cf.fiche C), les chevaux ont tous subi simultanément une vaccination antigrippale et pour certains, une vaccination antitétanique.

Les sérologies ont été contrôlées un mois plus tard. Cette cinétique est comparée, dans le tableau 9, à celle d'effectifs ayant subi le test sans vaccination concomitante.

Il apparaît que les variations sérologiques induites, sur une période d'un mois, par le test allergique, sont sensiblement modifiées lorsqu'il s'y associent des vaccinations. Plus précisément, étant donné que le test tend à faire croître la sérologie, il semble que les vaccinations tendent au contraire à la faire diminuer.

On peut émettre l'hypothèse qu'il y ait une mobilisation des anticorps, préférentielle vis à vis des vaccinations, grippale et surtout semble-t-il antitétanique, d'où influence négative sur la sérologie anti-bacille de Whitmore.

La sérologie de la mélioïdose constitue, de par les inconnues qu'elle garde, un champ d'investigation pour l'immunologiste en ce qui concerne la nature du contact germe-organisme, les facteurs influençant sa cinétique. Cependant, si sa valeur est faible sur le plan du diagnostic individuel, sa cinétique peut néanmoins orienter un diagnostic. Sur le plan épidémiologique, elle présente au contraire un intérêt indéniable comme "empreinte" laissée par le germe.

III - LE TEST ALLERGIQUE (tableaux 10 & 11)

La mise en oeuvre de ce test n'a donné que trois résultats franchement positifs (cf.fiche C).

Les trois chevaux positifs le 23 Février, se sont révélés négatifs le 12 Octobre, par ailleurs, le germe n'a pas été isolé dans

leurs crottins. Le niveau sérologique au moment du test n'était pas significativement élevé. L'influence du test allergique sur la sérologie peut être étudiée à l'aide des tableaux 10 - 11.

La présentation de ces résultats montre que :

- un test allergique tend à faire croître la sérologie, ce qui semble notable lorsque la cinétique est effectuée au cours du premier mois suivant le test.
- au bout de deux à trois mois, la sérologie n'est pas sensiblement modifiée.
- un deuxième test allergique tend à entraîner une augmentation plus forte et rapide du taux d'anticorps. Cela peut s'interpréter du fait de la sensibilisation précédente due au premier test.

Ces résultats montrent, qu'à moyen terme, le test ne modifie pas le taux d'anticorps et par conséquent, n'interfère pas avec le diagnostic sérologique.

Il convient de ne pas le mettre en oeuvre trop fréquemment pour éviter une éventuelle "désensibilisation". Son intérêt serait de distinguer les infectés réagissants, de simples porteurs transitoires.

IV - SUGGESTIONS RELATIVES A LA PATHOGENIE, AU DIAGNOSTIC ET A LA PROPHYLAXIE

Cette enquête a permis de mettre en évidence le bacille de Whitmore au sein d'un effectif équin militaire à Paris : par l'isolement dans des crottins et dans un manège, par des tests allergiques positifs, des sérologies significatives, par un cas clinique rattachable à la mélioïdose. Du fait des risques encourus, concernant tant l'effectif que le personnel, cette étude a pour conséquence la mise en application de mesures strictes de prophylaxie sanitaire.

De façon plus générale, on a vu qu'étant donné le polymorphisme des manifestations symptomatologiques et lésionnelles, le clinicien et l'épidémiologiste doivent avoir recours à des méthodes de diagnostic expérimentales, qui du fait de leurs limites et de leurs valeurs doivent être associées à des niveaux différents :

- La bactériologie : pour déterminer les excréteurs de germes, les zones infectées et cerner les populations plus particulièrement exposées.
- Le test allergique : pour préciser l'hypersensibilité.
- La sérologie : pour évaluer le contact germe-organisme et suivre un phénomène évolutif.

Des points restent à éclaircir en ce qui concerne les sérologies positives, les tests cutanés positifs en l'absence de manifestation clinique; les travaux se poursuivent pour savoir s'il s'agit de simples primo-infections.

On ne peut parler de mélioïdose que lorsqu'une suspicion clinique, rattachable à une hypothèse épidémiologique, éventuellement étayée par une cinétique d'anticorps ou un test allergique, est confirmée, à postériori, par la mise en évidence du Pseudomonas pseudomallei dans les organes, seul diagnostic de certitude.

Le Pseudomonas pseudomallei est un élément de notre écologie dont il est impossible de préciser s'il est autochtone ou d'importation plus ou moins récente; il constitue un danger potentiel pour les individus, homme ou animal, immunodéprimés.

Sa répartition est si large dans le monde que les risques encourus ne sont pas plus grands qu'en ce qui concerne la mélioïdose.

Une attitude de vigilance raisonnée, orientant vers des méthodes de diagnostic adaptées, doit prendre dans les esprits et sur le terrain, la place de position parfois enreinte d'indifférence coupable ou de peur irrationnelle.

V - PHYLOGENETIC HYPERINFECTION

Sur le plan de l'évolution de la pathologie il est intéressant de préciser les relations entre morve et mélioïdose : on a vu que les signes cliniques et lésionnels sont voisins, les germes responsables très proches, à tel point que FOURNIER considère que le bacille de la morve ne serait rien d'autre qu'un mutant de Pseudomonas pseudomallei strictement adapté à l'homme et aux équidés.

La morve, grande maladie des civilisations dont le cheval constituait une source d'énergie ou un moyen de conquête, a pratiquement disparu sous l'influence de la réduction du nombre des équidés durant la première partie du XXème siècle et grâce à l'application de la malleination, permettant de dépister les morveux chroniques, de les abattre et ainsi de faire disparaître le réservoir.

Pour DODIN, la question se pose de savoir s'il y a interférence entre l'apparition de la mélioïdose et la disparition de la morve. Des recherches dans ce domaine sont en cours qui consistent à étudier si Pseudomonas pseudomallei, à faible dose, peut induire une protection vis à vis du Pseudomonas mallei; il est en effet permis de penser que le Pseudomonas pseudomallei est tellement ubiquiste et antigéniquement proche du Pseudomonas mallei, qu'il a pu être un des éléments, avec d'autres conditions associées, de la disparition de ce dernier.

Dans la deuxième partie du XXème siècle, le renouveau du cheval s'est fait des conditions sociales nouvelles : sportif ou agent de loisir, il n'est plus en contact uniquement avec des paysans que l'on pouvait supposer résistants, aguerris par les intempéries, mais il cotoie aujourd'hui des citadins et des enfants. Les déplacements dont il est l'objet, tant en France, que dans le monde entier, sont des facteurs nouveaux d'extension de processus morbides. Ces données nouvelles modifient l'épidémiologie des affections qui l'atteignent.

La mélioïdose, due à Pseudomonas pseudomallei, est une zoonose pathogène pour l'homme et de nombreuses espèces animales, mammifères et oiseaux. Considérée traditionnellement comme exotique, localisée au sud-est asiatique, elle se révèle être endémique dans les cinq continents. Sa découverte en 1975 dans les parcs zoologiques de Vincennes et du Jardin des Plantes, a motivé une enquête épidémiologique générale, en particulier dans l'effectif des chevaux de la Garde Républicaine de Paris.

La preuve de son existence a été fournie par le diagnostic d'un cas clinique de forme subaiguë; la mise en évidence du germe a été faite de façon directe par isolement chez des porteurs excréteurs fécaux infra-symptomatiques, de façon indirecte par des sérologies (agglutination) et des allergies (intradermoréaction) positives. Certaines excréctions fécales s'accompagnant d'une négativité séro-allergologique.

L'enquête épidémiologique suggère une importation éventuelle par des animaux originaires de pays infectés à la faveur des échanges privilégiés entre la Garde Républicaine et les parcs zoologiques. Toutefois, la très large répartition du germe peut livrer des filiations de contamination certaine (germe tellurique reconnu en région parisienne, dans les Lombes, en Bretagne...)

La parenté systématique et antigénique entre Pseudomonas pseudomallei et Pseudomonas aeruginosa (bacille pyocyanique, 18^e canal de l'intestin) laisse les interprétations des titres sérologiques et des réactions allergiques, très problématiques.

La parenté du bacille de Whitmore avec le bacille morveux qui ne pourrait être qu'un mutant de haute virulence, restreint aux équidés et à l'homme, pourrait phylogénétiquement suggérer une substitution de la morve, désormais supprimée par la prophylaxie, par la mélioïdose.

Maladie tellurique, sans éradication possible, de faible virulence générale mais cliniquement exprimée à l'occasion d'une immunodépression, la mélioïdose pourrait être considérée comme une maladie autochtone et d'avenir, qu'il convient d'insérer désormais dans le cadre du diagnostic différentiel des maladies du cheval.

Vu :
LE DIRECTEUR

de l'École Nationale Vétérinaire de Lyon,

LE PROFESSEUR RESPONSABLE
de l'École Nationale Vétérinaire,

Louis Loubert

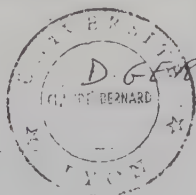
LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE,

Vu et permis d'imprimer.....

LYON, le 14 OCT. 1980

LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ

LYON I



BIBLIOGRAPHIE

- 1 - ALEXANDER, A.D., HUXSOLL, D.L. and WARNER, A.R. Jr. - Serological diagnosis of human melioidosis with indirect hemagglutination and complement fixation tests. Appl. Microbiol. 1970, 20(5) : 825 - 833.
- 2 - ALEXANDER, A.D. and Williams, L.C. - In vitro, susceptibility of strains of *Pseudomonas pseudomallei* to Rifampicin. Appl. Microbiol. 1971, 22(1) : 11-12.
- 3 - ALONSO, J.M. - Cité par CHOVE (20).
- 4 - BAHARSEFAT, M. and AMJADI, A..R - Equine Melioidosis in Iran. Arch. Inst. Razi 1970, 22 : 209-213.
- 5 - BASSET, D.C. Jr. - The sensitivity of *Pseudomonas pseudomallei* to Trimethoprim and Sulfomethoxazole in vitro. J. Cl. Path. 1971, 24 (9) : 798-800.
- 6 - BEAUMONT, R.J. - Trimethoprim as a possible therapy for nocardiosis and melioidosis. Med. J. Austr. 1970, 24 : 1123-1127.
- 7 - BERCHE P, VERON M, FERMANIAN J, DAOULAS-LEBOURD, GUEGEN A.- An Acellular vaccine from *Pseudomonas aeruginosa* : homologous and crossed protection between serogroups according to Hab's classification. Ann Microbiol, 130 A, 1979, : 179-188.
- 8 - BERGEY's Manual of Determinative Bacteriology. - Williams & Wilkins ed. Baltimore, 1957.
- 9 - BEYTOUT, D., FOURNIER, J. and VIETTE, M. - Recherches sur la toxicité du bacille de Whitmore. Ann. Inst. Pasteur 1961, 101 : 928-935.
- 10 - BIEGELEISEN, J.Z., MOSQUERA, R.M. and CHERREY, W.B. - A case of melioidosis : clinical, epidemiological and laboratory findings. J. Trop. Med. Hyg. 1964, 13 : 89-99.
- 11 - BLANC, G. et BALTHAZARD, M. - Transmission de l'infection à bacille de Whitmore par les insectes piqueurs. Ann. I.P. 1942, 68 : 281-293.
- 12 - BLANC, G. et BALTHAZARD, M. - Recherches sur la mélioiïdose, infection à bacille de Whitmore - Etudes expérimentales. Arch. I.P. Maroc 1947, 3 : 520-562.
- 13 - BOURRIER - Mélioiïdose équine en Mayenne dans une écurie de chevaux de selle. Bull. Soc. Vet. Prat. de France. Tome 62 N°9 Nov. 1978.
- 14 - BRYGOO, E.R. - Action du chloramphenicol sur le bacille de Whitmore. Bull. Soc. Path. Exot. 1953, 46 : 169-172.
- 15 - BRYGOO, E.R. - Action de la néomycine sur le bacille de Whitmore. Bull. Soc. Path. Exot. 1953, 46 : 216-221.
- 16 - BRYGOO, E.R. and RICHARD, C. - Pouvoir chromogène de *Malleomyces pseudomallei*. Ann. Inst. Pasteur 1953, 83 : 822-825.
- 17 - BUTLER, T.M. et al. - Melioidosis in a chimpanzee, Am. J. Vet. Res. 1971, 32 : 1109-1117.

- 18 - CHAMBON, L. - Isolement du bacille de Whitmore à partir du milieu extérieur. Ann. Inst. Pasteur 1955, 69 : 229-235.
- 19 - CHEVRIER, L. - Cité par GALIMAND (58).
- 20 - CHOVE, M.A. - Actualité de la mélioïdose en France. Thèse de doctorat d'état ès Sci.Vét. 1977, Alfort.
- 21 - CLAYTON, A.J., LISELLA, R.S. and MARTIN, D.G. - Melioidosis : A serological survey in Military personal. Military Medicine 1973, 138 : 24-26.
- 22 - COLLOMB, H. & BOUBE, J. - La mélioïdose dans le Corps Expéditionnaire français. Rev. Med. Chir. F.A.E.O. 1953, 3 : 27-37.
- 23 - COOK, I. - A survey of antibodies to melioidosis in man and nature animals. Med.J.Aust. 1962, 20 : 627-629.
- 24 - CORNEL, 1948 cité par FOURNIER & CHAMBON (48).
- 25 - COTTEW, G.S. - Melioidosis. Aust.Vet.J. 1955, 31 : 155-158.
- 26 - COTTEW, G.S., SUTHERLAND, A.K. & MEEHAN, J.F. - Melioidosis in sheep in Queensland. Aust. Vet. J. 1952, 28 : 113-123.
- 27 - COX, C.D. and ARBOGAST, A. - Melioidosis Amer.J.Clin.Path. 1945 15 : 567-570.
- 28 - CROS, R. and DEMARCHI, J. - Note sur l'action in vitro de la chloromycétine sur le bacille de Whitmore. Ann. Inst. Pasteur 1950 79 : 217-221.
- 29 - CROS, R. and FARINAUD, E. - Sur un cas de mélioïdose à localisation pleuro-pulmonaire traité par la chloromycétine et la sulfadiazine Bull. Soc.Path.Exot. 1950, 43 : 720-726.
- 30 - CURASSON, G. - Traité de Pathologie Exotique et Comparée, tome II 183-197, éd. Vigot 1942.
- 31 - DANNENBERG, A.M. and SCOTT, EM. - Determination of respiratory DL 50 from number of primary lesions as illustrated by melioidosis. Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 1956, 92 : 571-575.
- 32 - DAVIE, J. and WELLS, C.W. - Equine melioidosis in Malaya. Brit. Vet. 1952, 108-161.
- 33 - DESBROSSE, F. - Cité par CHOVE (20).
- 34 - DESBROSSE, F., DODIN, A., GALIMAND, M. - La pseudo-morve ou mélioïdose maladie due au bacille de Whitmore. Mise en évidence dans la région ouest parisienne. Bull.Soc.Vet.Prat. de France tome 62 N° 9 Dec.1978.
- 35 - DODIN, A. - Actualité de la mélioïdose. Rec.Med.Vet.Alfort 1976 152 : 285-288.
- 36 - DODIN, A. - Communications personnelles 1979.
- 37 - DODIN, A. - La mélioïdose un problème mondial. La recherche N° 68 Juin 1975, 574-577.
- 38 - DODIN, A. and FERRY, R. - Recherches épidémiologiques du bacille de Whitmore en Afrique. Bull.Soc.Path.Exot. 1974, 67: 121-126.
- 39 - DODIN, A. and FERRY, R. - Découverte du bacille de Whitmore en Afrique. Med.et Mal. Infect. 1975, 5 : 97-101.

- 40 - DODIN, A. et FOURNIER, J. - Antirènes précipitants et antigènes agglutinants de *Pseudomonas pseudomallei*. 1/ Complexe thermostable et complexe thermolabile. Typage sérologique. Ann. Inst. Pasteur. 1970, 119 : 211-221.
- 41 - DODIN, A. et GALIMAND, M. - Communications personnelles 1979.
- 42 - DODIN, A. et GALIMAND, M. - Le bacille de Whitmore. Rec. Med. Vet. Alfort 1976, 152 (5) : 323-325.
- 43 - DODIN, A. et GALIMAND, M. - *Pseudomonas pseudomallei*. Cours Magistral Inst. Pasteur 1977.
- 44 - DODIN, A., GALIMAND, M., CHOVE, M. A. et SANSON, R. - La bacille de Whitmore, germe d'actualité. Med. et Mal. Infect. 1976, 6 : 395-398.
- 45 - DODIN, A. et GALIMAND, M. - Introduction à une écologie nouvelle du bacille de Whitmore. Bull. Soc. Path. Vet. Pratique tome 62 N° 9 Sept. 1978.
- 46 - DUHAMEL, P. - Aspects actuels de la mélioïdose. Thèse Med. Paris 1976.
- 47 - EGERTON, J. R. - Melioidosis in a tree-climbing kangaroo, Aust. Vet. J. 1963, 39 : 243-244.
- 48 - EGERTON, J. R. - Bovine melioidosis. Aust. Vet. J. 1964, 40 : 34-35.
- 49 - ELLISON, D. W., BAKER, H. J. and MARIAPPAN, M. - Melioidosis in malaysia 1/A method for isolation of *pseudomonas pseudomallei* from soil and surface water. Amer. J. Trop. Med. Hyg. 1969, 18 (5) : 694-697.
- 50 - FERRY, R. - Isolement du bacille de Whitmore à partir des lésions rencontrées chez le porc à l'abattoir de Niamey au Niger. Bull. Soc. Path. Exot. 1973, 66 : 42-44.
- 51 - FISHER, M. W. and HILLEGAS, A. B. - Susceptibility in vivo and in vitro of *Pseudomonas pseudomallei* to rifampicin and tetracycline. Appl. Microbiol. 1971, 22 (1) : 13-16.
- 52 - FOURNIER, J. - Une zoonose qui gagne du terrain : la mélioïdose Med. d'Egypte 1960, 23-40.
- 53 - FOURNIER, J. - L'antigène précipitant thermostable de *Pseudomonas pseudomallei*. Ann. Inst. Pasteur 1965, 108 : 102-112.
- 54 - FOURNIER, J. - La mélioïdose. Med. et Mal. Infect. 1971, 1 : 411-425 et 469-478.
- 55 - FOURNIER, J. & CHAMBON, L. - La mélioïdose et le bacille de Whitmore Ed. Flammarion 1958, 1 vol.
- 56 - FOURNIER, J. & DODIN, A. - Les communautés antigéniques du bacille de Whitmore et du bacille de la morve. Essais d'analyse par l'immunofluorescence. Bull. Soc. Path. Exot. 1971, 64(6) : 832-836.
- 57 - GALIMAND, M. - Mise au point d'un milieu sélectif synthétique pour l'enrichissement et l'isolement de *Pseudomonas pseudomallei*. Diplôme d'études approfondies, Université de Paris VII, 1976.
- 58 - GALIMAND, M. - Nouvel habitat de *Pseudomonas pseudomallei*. Thèse de doctorat du 3ème cycle. Paris VII.
- 59 - GAMERMAN, H., MOLLARET, H. H., DODIN, A., DELECLOY, J. M. et ROMEO, R. - Une maladie infectieuse qu'il faut désormais évoquer en France : la mélioïdose. Med. et Mal. Infect. 1977, 7(9) : 395-399.

- 60 - GENEVRAY, cité par FOURNIER & CHAMBON (55)
- 61 - GILMOUR, C.C.B. - A case of melioidosis in Singapore. Malayan Medical Journal 1931, 6 : 126-140.
- 62 - GIRARD, G. - Le porc peut-il être un porteur sain de bacille de Whitmore ? Bull. Soc. Path. Exot. 1936, 29 : 712-716.
- 63 - GRENIER de CARDENAL - La mélioïdose. Rev. Corps Santé Mil. 1953, 9 : 100.
- 64 - GRUNBERG, E. and BESKID, G. - Activity of selected agents against the Pseudomonas pseudomallei infection of mice. Ann. Rev. Resp. Dis. 1970, 101 : 623-626.
- 65 - HAMMOND - Cité par CHOVE (20).
- 66 - HECKLY, R.J., COLLING, M. and NIGG, C. - Toxins produced by Malleomyces pseudomallei. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1955, 89 : 17-20.
- 67 - HECKLY, R.J., COLLING, M. and NIGG, C. - Toxins of Malleomyces pseudomallei. I/Production in vitro. J.Bact. 1958, 76(4) : 422-426. II/Characterization, J. Bact. 1958, 76(4) : 427-436.
- 68 - HUARD - 1952, Communication non publiée, citée par FOURNIER & CHAMBON, 52.
- 69 - KAUFMANN, A.F., ALEXANDER, A.D., ALLEN, AM., CRONIN, R.J., DILLINGHAM, L.A., DOUBLAS, J.D. et MOORE, T.D. - Melioidosis in imported non-human primates. J.Wild.dis. 1970, 6 : 211-219.
- 70 - KISHIMOTO, R.A., BROWN, G.L. and BLAIR, E.B. - Melioidosis : serologie studies on US Army Personal returnin from South East Asia. Military Medicine 1971, 136(8) : 694-698.
- 71 - KETTERER, P.J. & BAMFORD, V.W. - A case of melioidosis in lambs in South Western Australia. Aust.Vet.J. 1967, 43 : 79-80.
- 72 - KETTERER, P.J., BERVERLY, D. and ROGERS, R.J. - Bovine melioidosis in South Eastern Queensland, Aust. Vet.J. 1975, 51 : 395-398.
- 73 - LAJUDIE, P. de PORTE, L. et BRYGOO, E.R. - Sur un cas de Kalar-azar et de mélioïdose observé en Indochine. Bull.Soc.Path.Exot. 1952, 45 : 45-48.
- 74 - LAVERDANT, Ch. - Les localisations pulmonaires de la mélioïdose. Thèse Med. Paris 1953.
- 75 - LAWS, L. - Melioidosis in animals in North Queensland. V/Serological methods of diagnosis in sheep. Queensland.J.Agric.Sci. 1967, 24 : 207-221.
- 76 - LAWS, L. and HALL, W.T.K. - Melioidosis, Queensland J. of Agric. Sc. 1963, 4 : 499-511.
- 77 - LAWS, L. and HALL, W.T.K. - Melioidosis in animals in North Queensland Aust. Vet. J. 1964, 40 : 309-314.
- 78 - LECLERC, H. et SUREAU, P. - Recherche des bactériophages anti-bacilles de Whitmore dans les eaux stagnantes à Hanoï. Bull. Soc. Path. Exot. 1956, 49 : 874-880.
- 79 - LEGROUX, R. and GENEVRAY, I. - Etude comparative entre le bacille de Whitmore et le bacille pyocyanique. Ann.Inst.Pasteur 1933, 51 : 249-264.

- 80 - LEWIS, F.A. and OLDS, R.J. - Melioidosis in sheep and a goat in North Queensland, Aust.Vet.J. 1952, 28 : 145-151.
- 81 - LEWIS, F.A. and OLDS, R.J. - Melioidosis in goat. Aust.Vet.J. 1954 30 : 253-261.
- 82 - Mac CORMICK - Human to human transmission of *Pseudomonas pseudomallei* Ann. Intern. Med. USA 1975, 83 : 512-513.
- 83 - Mc CORMICK, J.B., WEAVER, R.E., HAYES, P.S., BOYCE, J.M. and FELDMAN, R.A. - Wound infection by an indigenous *Pseudomonas pseudomallei* - Like organism isolated from the soil : case report and epidemiologic study. J.Inf.Dis. 1977, 135(1) : 103-107.
- 84 - Mc DOWELL, F. and VARNEY, P.L. - Melioidosis : report of first case from the Western Hemisphere. J. Amer. Med. Ass. 1947, 134 : 361-362.
- 85 - MICHAEL, A. and STEDHAM - Melioidoses in dogs in Vietnam J.A.V.M.A. 1971, 158 N°2, 1948-1950.
- 86 - MILLER, W.R. - Cité par PHUNG VAN DAN (38)
- 87 - MIRICK, G.S., ZIMMERMANN, H.M., MANER, G.D. and HUMPHREY, A.A. - Melioidosis in Guam. J.Amer. Med.Ass. 1946, 130 : 1063-1067.
- 88 - MOLLARET, H.H. - Sur la présence en France de la mélioiïdose. Med. et Mal. Infect. 1977, 7(9) : 391-394.
- 89 - NGUYEN-BA-LUONG - A propos d'une épizootie porcine de mélioiïdose. Bull. Soc. Path. Exot. 1956, 49 : 25-30.
- 90 - NICHOLLS - Cité par PHUNG-VAN-DAN (98).
- 91 - NIGGS, C. - Serologic studies on subclinical melioidosis. J. Immun. U.S.A. 1963, 91 : 18-28.
- 92 - NOUTH-KIMLENG-BOUNTHA - A propos de quelques cas de mélioiïdose animale au Cambodge. Thèse Alfort 1968, N° 37.
- 93 - NOUVEL, J., DODIN, A., DEMONTOY, M.C. et CHOVE, M.A. - La mélioiïdose à la Ménagerie du Jardin des Plantes. Bull.Ac.Vet. 1976, 49 : 223-230
- 94 - OLDS, R.J. and LEWIS, F.A. - Melioidosis in goats. Aust.Vet.J. 1954 30 : 253-261.
- 95 - OLDS, R.J. and LEWIS, F.A. - Melioidosis in a pig. Aust.Vet. J. 1955 31 : 273-274.
- 96 - OMAR, A.R. - Pathology of melioidosis in pigs, goats and a horse. J. Comp. Path. 1963, 73 : 359-372.
- 97 - PALLERONI, N., KUNISAWA, R., CONTOPOULOU, R. and DOUDOROFF, M. - Nucleic acid homologies in the genus *Pseudomonas*. Int.J.Syst. Bact. 1973, 23(4) : 333-339.
- 98 - PHUNG-VAN-DAN - Contribution à l'étude des zoonoses tropicales : le bacille de Whitmore et la mélioiïdose. Thèse de Méd. Vet, Lyon 1957, N° 31.
- 99 - POURTAGHVA, M., DODIN, A., MACHOUN, A., GALIMAND, M. et MOSTASHRI-FATOURETCHI, N. - Etude d'une dermatite d'allure allergique survenant au contact d'eau contaminée par *Pseudomonas pseudomallei* chez les riziculteurs du Sud de la Mer Caspienne. Med. et Mal. Infect. 1976, 6 : 405-408.

- 100 - FOURTAGHVA, M., MACHOUN, A. et DODIN, A. - Mise en évidence de *Pseudomonas pseudomallei* dans les boues des rizières iraniennes. Bull.Soc.Path.Exot. 1975, 68 : 367-370.
- 101 - PRESTON, P.J., LIGHTFOOT, N. and CLARKE, P. - A retrospective serological survey of royal marines previously exposed to *Pseudomonas pseudomallei* in South East Asia. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 1976, 70(4) : 335-337.
- 102 - PROVOST, A., et VIGIER, M. - Isolement au Tchad de deux souches de *Malleomyces pseudomallei*. Rev. Elev. Méd. Vét. Pays Trop. 1959 12 : 417-418.
- 103 - RAMPLING, A. - Porcine melioidosis in the territory of Papua and New Guinea. Aust. Vet. J. 1964, 40 : 241.
- 104 - REDFEARN, M.S., PALLERONI, N.J. and STANIER, R.Y. - A comparative study of *Pseudomonas pseudomallei* and *Bacillus mallei*. J. Gen. Microbiol. 1966, 43 : 293-313.
- 105 - RIMINGTON, R.A. - Melioidosis in North Queensland. Med.J.Aust. 1962, 1 : 50-53.
- 106 - ROGUL, M., BRENDLE, J.J., HAAPALA, D.K. and ALEXANDER, A.D. - Nucleic acid similarities among *Pseudomonas pseudomallei* *Pseudomonas multivorans* and *Pseudomonas mallei*. J.Bact. 1970, 101(3) : 827-835.
- 107 - ROWLANDS, J.B. and CURTISS, P.G. - A case of melioidosis in Papua and New Guinea. Med.J.Aust. 1965, 2 : 494-495.
- 108 - SCHAAF, A. Van der. - Zoonoses, Ch.IX p.194 à 201. Ed. Van der Hoeden, 1964.
- 109 - SHANTA - 1960, cité par NOUTH-KIMLENG-BOUNTHA (84).
- 110 - SMITH, P.B. and CHERRY, W.B. - Identification of *Malleomyces* by specific bacteriophages. J.Bact. 1957, 74 : 668-672.
- 111 - SREY THONN, LEBON, R., SAPHON et TRIAU, B. - Note sur une épizootie de mélioiïdose porcine au Cambodge. Rev. Elev. Méd. Vét. Pays Trop. 1960, 13 : 175-178.
- 112 - STANTON, A.T. and FLETCHER, W. - Melioidosis. London J. Bale Edit. 1932, 1 vol.
- 113 - STANTON, FLETCHER et SYMONDS - Melioidosis in a horse. Bull.I.P. 1925, p. 582.
- 114 - STRAUSS, J.M., GROVES, M.G., MARIAPPAN, M., and ELLISON, D.W. - Melioidosis in Malaysia. II/Distribution of *Pseudomonas pseudomallei* in soil and surface water. Amer. J. Trop. Med. Hyg. 1969, 18(5) : 698-702.
- 115 - STRAUSS, J.M., ALEXANDER, A.D., RAPMUND, G., GAN, E. and DORSEY, A.E. - Melioidosis in Malaysia. III/Antibodies to *Pseudomonas pseudomallei* in the human population. Amer.J.Trop.Med.Hyg. 1969, 18(5) : 703-707.
- 116 - SUTMOLLER, P., KRANEVELD, F.C. and SCHAAF, A. Van der - Melioidosis in sheep, goats and pigs on Aruba. J. Am.Vet.Med.Ass. 1957, 130 : 415-417.
- 117 - THIN, R.N.T., GROVES, M., RAPMUND, G. and MARIAPPAN, M. - *Pseudomonas pseudomallei* in the surface water of Singapore. Singapore Med.J. 1971, 12(3) : 181-182.

- 118 - TOULAC et HUARD - Cités par NOUTH-KIMLENG-BOUNTHA (64).
- 119 - VAUCEL, M. - Présence probable du bacille de Whitmore dans l'eau de mare au Tonkin. Bull.Soc.Path.Exot. 1937, 30 : 10-14.
- 120 - VIELLE, E., MORIN, H? and MASSIAS, C. - Un nouveau cas de mélioïdose en Cochinchine. Bull.Soc.Med.Chir.Ind. 1926, 460.
- 121 - WHITMORE, A. - An account of a glanders-like disease occurring in Rangoon. J. Hyg. 1913, 13 : 1-14.
- 122 - WHITMORE, A. and KRISHNASWAINI, C.S. - An account of the discovery of a hitherto infective disease occurring in the population of Rangoon. Indian Med. Gazette 1912, 47 : 262-267.
- 123 - ZIMMERMAN, J.E. - Acute septicemic melioidosis : successful treatment with gentamicin. Amer. J. Clin. Path. 1971, 55(5) : 596-603.

